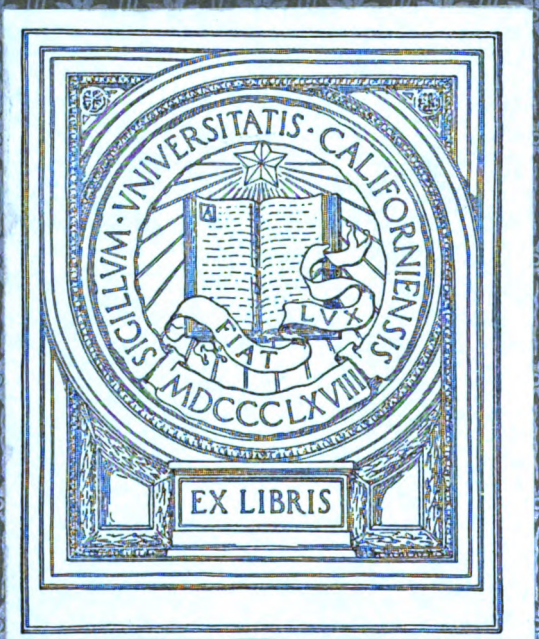
UC-NRLF
$B 650 583



COLLEGE OF AGRICULTURE
DAVIS, CALIFORNIA

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Breslau, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. E., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

U. Ascoli-Pavia, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, Chr. Bohr-Kopenhagen, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Brodie-Heidelberg, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-NewYork, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-Berkeley, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York. L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad. J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Prag, Ch. Porcher-Lyon, F. Reichmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, Zd. H. Skraup-Wien, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Dreiundzwanzigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1910.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY
COLLEGE OF AGRICULTURE

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Kowalevsky, K. Über das Schicksal des Histidins im Körper des Hundes 1

Glaser, Erhard. Thermometer als Thermoregulatoren 5

Löb, Walther. Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen. VII. 10

Biltz, Wilhelm. Über die Adsorption von Eiweißstoffen 27

Thar, H. Die Purinbasen des Knochenmarks 43

Sato, T. Neue Reaktionen des Schwefelharnstoffes 45

Löwy, Emil. Über krystallinisches Chitosansulfat 47

Michaelis, L. und P. Rona. Der Einfluß der Neutralsalze auf die Indicatoren 61

Meyer, Kurt. Über Trypsin und Antitrypsin 68

Loeb, Jacques. Chemische Konstitution und physiologische Wirksamkeit von Alkoholen und Säuren. II. 93

Cronet, W. Versuche über Resorption von Fetten im Dünndarm. 97

Kostytschew, S. Über den Einfluß vergorener Zuckerlösungen auf die Atmung der Weizenkeime 137

Cronheim, W. Über den Nachweis von Fluorwasserstoff neben Fluorsalzen 143

Feresman, J. Über das Bindungsvermögen der Stromata 146

Zaleski, W. Über die Rolle des Sauerstoffs bei der Eiweißbildung in den Pflanzen 150

Ury, Hans. Über den quantitativen Nachweis von Fermenten in den Faeces 153

Bemerkung 178

Hata, S. Über die Bestimmung des Pepsins durch Aufhellung von trüben Eiereiweißlösungen 179

Kawashima, K. Über das Verhalten der Antikörper des Blutserums gegen Lösungsmittel und andere Reagenzien 186

Zaleski, W. und A. Reinhard. Die Wirkung der Mineralsalze auf die Atmung keimender Samen 193

Baglia, G. Über das Schicksal der intravenös in den Organismus eingeführten Gelatine und über die dadurch bedingten Veränderungen des Blutes und des Harns 215

Yoshida, Tanzo. Über die Formoltitration der Aminosäuren im Harne 239

61874

Mandel, J. A. Über die Spaltungsprodukte des Nucleoproteides der Milchdrüse 245
Epstein, Albert A. Zur Lehre von der Harnstoffbildung 250
Nerking, J. Zur Methodik der Lecithinbestimmung 262
Truffi, Mario. Über die Wirkung von Quecksilbersalzen auf die Autolyse 270
Gudzent. Kritische Bemerkungen zu der Arbeit „Vorstudien über Gicht" von Bechold und Ziegler (diese Zeitschr. **20**, 189) . . . 275
Rohland, P. Über die Adsorption durch Tone. II. 278
Höckendorf, Paul. Über den Einfluß einiger Alkohole, Oxy- und Aminosäuren der aliphatischen Reihe auf die Zucker- und Stickstoffausscheidung beim Phlorizindiabetes des Hundes. I. . . . 281
Sieber, N. Zur Frage der Einwirkung von Alkohol auf den Gehalt der tierischen Organe an Phosphatiden 304
Vandevelde, A. J. J. Über polarimetrisch meßbare Zuckerzerstörungen in physiologischen Flüssigkeiten 324
Erlandsen, A., Experimentelle Untersuchungen über den Phlorizindiabetes. I 329
Salkowski, E., Über das Vorkommen von Cholesterinestern in der menschlichen Epidermis und die Reaktionen derselben 361
Michaelis, L. und **P. Rona,** Beiträge zur Frage der Glykolyse. I. Die Alkaliempfindlichkeit des Traubenzuckers 364
Porcher, Ch., Über die Entstehung des Milchzuckers 370
Sasaki, Takaoki, Tokio. Über eine neue empfindliche Skatolreaktion 402
Terroine, Emile F. Zur Kenntnis der Fettspaltung durch Pankreassaft. I. 404
Berichtigungen 428
Terroine, Emile F. Zur Kenntnis der Fettspaltung durch Pankreassaft. II. 429
Bang, Ivar. Kobragift und Hämolyse III. 463
Bondi, S. und **Franz Eißler.** Über Lipoproteide und die Deutung der degenerativen Zellverfettung. V. 499
Bondi, S. und **Franz Eißler.** Über Lipoproteide und die Deutung der degenerativen Zellverfettung. VI. 510
Gulewitsch, Wl. Notiz zur Abhandlung von A. Nürenberg: „Zur Kenntnis des Jodthyreoglobulins" 514
Neuberg, C. und **H. Pollack.** Über Kohlenhydratphosphorsäureester. I. 515

Über das Schicksal des Histidins im Körper des Hundes.

Vorläufige Mitteilung.

Von

K. Kowalevsky.

(Aus dem Laboratorium für physiologische Chemie der medizinischen Hochschule für Frauen zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 18. Oktober 1909.)

Im Februar des laufenden Jahres wurde von mir eine Reihe von Versuchen angestellt zwecks Aufklärung der Frage nach dem Schicksal des Histidins im Organismus des Hundes. Diese Versuche sind noch nicht abgeschlossen. Doch in Anbetracht der in dem letzten Hefte der Zeitschrift für physiologische Chemie erschienenen Arbeit von E. Abderhalden und H. Einbeck, „Studien über den Abbau des Histidins im Organismus des Hundes", in welcher die Autoren ebenfalls über eine Reihe noch nicht abgeschlossener Versuche berichten, halte ich es für notwendig, bereits jetzt meine Ergebnisse mitzuteilen.

Die Versuche wurden an einem Hunde von 9 kg Gewicht angestellt. Im Laufe von zwei Wochen erhielt er täglich 140 ccm Milch, 70 g Schwarzbrot und 100 ccm Wasser, also ca. 1,6 g N; an den letzten 4 Tagen, welche der Histidindarreichung vorangingen, wurde der Gesamt-N des Urins bestimmt, am letzten Tage auch der Harnstoffgehalt. Dann wurde an 2 Tagen der Nahrung Histidinmonochlorhydrat hinzugefügt, welches von mir aus Pferdeblut nach dem von Pauly modifizierten Fränkelschen[1])

[1]) S. Fränkel, Deskriptive Biochemie; Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 508, 1907.

Verfahren dargestellt worden war. Sowohl an den Tagen der Histidindarreichung als auch an den zwei folgenden Tagen wurde der Gesamt-N und der Harnstoff des Urins bestimmt.

In der zweiten Versuchsreihe, welche einen Monat später an demselben Hunde angestellt wurde, bekam er täglich eine Nahrung, bestehend aus 200 ccm Milch, 200 g Brot, 48 g Rohrzucker und 150 ccm Wasser. Der N-Gehalt der Nahrung wurde täglich genau bestimmt und betrug in der Tagesration 3,2256 g. Eine derartige Nahrung wurde lange vor der Histidinverabreichung, während derselben und auch an den 4 folgenden Tagen gegeben. In dieser Serie wurde der Gesamt-N, der Harnstoff, der Ammoniakgehalt, der Harnsäurestickstoff und die gesamte Schwefelsäure im Harn bestimmt. Hier muß noch bemerkt werden, daß in dieser zweiten Versuchsreihe, um einen Einfluß der HCl auszuschließen, zur Histidinmonochlorhydratlösung immer eine berechnete Sodamenge hinzugefügt wurde.

Die erhaltenen Resultate sind aus der beigefügten Tabelle zu ersehen.

Die in der Tabelle enthaltenen Zahlen zeigen zweifellos, daß der Harnstickstoff an den Tagen der Histidindarreichung stark zunimmt und daß fast dementsprechend auch der Harnstoffgehalt steigt. Die Reaktion des Harnes wird sauer, auch dann, wenn ich zu der Histidinmonochlorhydratlösung das berechnete Sodaquantum hinzufüge. Dadurch wird die Zunahme des Prozentgehaltes an Ammoniak-N erklärlich. Die Hauptfrage, die eine Antwort erheischt, ist die, auf Kosten welcher Substanz die Stickstoffsteigerung an den Tagen der Histidindarreichung erfolgt. Leider habe ich in diesen Versuchen keine systematischen N-Bestimmungen im Kot angestellt, und kann hier nur erwähnen, daß ich eine bedeutende N-Menge im Kot am 9. IV., d. h. am zweiten Tage der Histidindarreichung fand.

Wenn man diesen Umstand sowie die Steigerung der Gesamtschwefelsäure im Urin an den Tagen der Histidindarreichung in Betracht zieht, so wird man zugeben, daß die Steigerung des Gesamt-N im Urin in beträchtlichem Grade von dem erhöhten Zerfall des Körpereiweißes abhängt.

Die Zahlen Abderhaldens und Einbecks und auch das Eintreten der saueren Reaktion im Urin sogar nach Hinzufügung von Soda zum Histidin scheinen auch zugunsten dieser

Tabelle.

Datum	Gewicht des Hundes	Nahrungsstickstoff	Harnmenge	Harnreaktion	Sp. G.	Gesamt-N	Harnstoff-N	$\frac{+}{N(U)}$ %	Harnsäure-N	$\frac{-}{N(U)}$ %	Ammoniak-N	$\frac{N(NH_3)}{N}$ %	Gesamt-H_2SO_4
					1 Serie.								
22. II.	9230		208	Alk.	1018	2,0020							
23. II.	9250		180	Alk.	1026	2,0020							
24. II.	9250	ca. 1,6 g	210	Neutr.	1015	1,6699							
25. II.	9050		196	Alk.	1020	2,1000	1,848	88,00	0,0021	0,1			
26. II.	8980	+ 0,9210 N als Histidinmonochlorhydrat	242	Sauer	1025	3,2118	2,5071	78,60	0,0068	0,21			
27. II.	8900	+ 0,7368 N als Histidinmonochlorhydrat	147	Sauer	1035	3,2516	2,6589	81,77				8,42	
28. II.	8920		260	Sauer	1019	2,7081	2,2422	82,87					
1. III.	8870	ca. 1,6 g	278	Sauer	1016	2,2184	1,7981	81,05					
					2. Serie.								
6. IV.	8700	3,2256 g	222	Alk.	1033	3,0461	—	—	—	—	0,2254	7,4	
7. IV.	8720	3,2256 g	310	Alk.	1020	4,0768	3,5501	87,08	0,0033	0,089	0,2240	5,49	
8. IV.	8700	3,2256 + 2,276 N als Histidinmonochlorhydrat[1]) = 5,5123	292	Sauer	1036	5,5188	4,4804	80,12	0,0045	0,081	0,4159	7,54	0,4707
9. IV.	8600	3,2256 + 2,2250 N als Histidinmonochlorhydrat[1]) = 5,4506	270	Sauer	1040	5,7607	4,8006	83,33	0,0053	0,09	0,5821	10,10	0,5473
10. IV.	8500	3,2256 g	110	Sauer	1044	3,1847	2,5564	80,27	0,0040	0,12	0,3322	10,45	0,3021
11. IV.	8620	3,2256 g	275	schwach sauer	1022	2,9876	,4563	82,21	0,0031	0,10	0,2502	8,40	0,3354
12. IV.	8570	3,2256 g	216	schwach sauer	1016	1,5846	1,2882	81,30	—	—	0,1300	8,20	0,1817
13. IV.	8430	3,2256 g	193	schwach alk.	1022	2,5032	2,1840	87,00	0,0014	0,06	1,204	5,00	0,3365

[1]) Neutr. mit Soda.

Annahme zu sprechen. In den Versuchen, die gegenwärtig von mir zum Zweck der Klarlegung der eben berührten Frage angestellt werden, sollen systematische Bestimmungen von N, P_2O_5 und S sowohl im Urin und Kot als auch in der Nahrung gemacht werden, um die Möglichkeit zu erhalten, eine vollkommene Bilanz zu ziehen.

In Anbetracht der Anwesenheit des Imidazolrings im Histidin wurden von mir auch Versuche mit Darreichung von Methylimidazol am Hunde angestellt. Das Methylimidazol wurde nach der Methode von A. Windaus und F. Knoop (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 1166) erhalten. Leider ruft Methylimidazol Erbrechen hervor, und augenscheinlich ist es keineswegs indifferent für den tierischen Organismus, da zuletzt in einem Versuche, wo es trotz des Erbrechens gelang, eine gewisse Menge Methylimidazol durch den Magen einzuführen, der Hund schnell unter Erscheinungen starker Atemnot und darauffolgender Lähmung des Atemzentrums zugrunde ging.

Diese Versuche werden von mir weitergeführt und auch die mit Darreichung von Imidazol.

Außerdem habe ich die Absicht, sowohl das Schicksal des Histidins beim Durchleiten desselben durch Organe als auch die Einwirkung verschiedener Organextrakte auf dasselbe zu untersuchen.

Thermometer als Thermoregulatoren.

Von

Erhard Glaser.

(Aus dem chemischen Laboratorium des k. u. k. Militärsanitätskomitees in Wien.)

(Eingegangen am 19. Oktober 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Die verschiedensten selbsttätigen Temperaturregulatoren sind in Gebrauch; aber allen diesen, seien sie nun durch Gas oder durch Flüssigkeit betrieben, oder kommt ihre Wirkung durch einen mittels Elektromagneten herbeigeführten Kontakt zustande, haftet der Nachteil an, daß ihre Einstellung außerordentlich lange dauert, fortwährendes Probieren und lange dauernde Aufmerksamkeit erheischt.

Auch jeder Wechsel, den man mit der Temperatur vornehmen will, erfordert dieselbe mühsame, langwierige Prozedur wie eine Neueinstellung. Der Vorteil, den man ihnen nachrühmt, daß sie die Temperatur einmal eingestellt, innerhalb 0,1 ja 0,01 Graden konstant halten, trifft praktisch genommen insbesondere bei den mit Gas geheizten Thermostaten nicht zu, da man ja den Einfluß des Gasdruckes, der oft außerordentlich variiert, bei der Einstellung nicht so berücksichtigen, bzw. nur durch die Aufstellung besonderer Apparate (z. B. Gasdruckregulator nach Moitessier) ausschalten kann. Zieht man nun den Umstand in Betracht, daß nicht nur bei den meisten chemischen Operationen, sondern auch bei anderen gar so kleine Temperaturschwankungen keine Rolle spielen, so darf es eigentlich nicht wundernehmen, daß in der Chemie Thermoregulatoren verhältnismäßig wenig zur Anwendung gelangen. Man hilft sich auf andere Art, verwendet z. B. an Stelle von Wasserbädern, wenn man abstufen will, konzentrierte Kochsalz- (108°), Salpeter- (120°), Chlorcalciumlösungen (180°), Glycerin, Toluol usw., nimmt aber dabei ev. ungünstige Momente mit in Kauf, indem ja erwogen werden muß, daß die Gefäße, z. B. kupferne, hierdurch angegriffen werden können. Aber auch für andere chemische Operationen würden Thermoregulatoren öfters mit Vorteil Anwendung finden.

So schreibt Stas bei seinem Verfahren zum Aufsuchen von Alkaloiden vor, daß das Eindampfen des weingeistigen, filtrierten Auszuges aus den Untersuchungsobjekten bei einer 35° nicht überschreitenden Temperatur sich vollziehen soll. Es ist dies eine Forderung, die, wenn Atropin, Apomorphin, Hyoscyamin oder Physostigmin in Betracht kommen, sich auch nicht gut umgehen lassen wird. Aber auch zum Trocknen von Substanzen bedient man sich statt des, wie bereits erwähnt, ziemliche Zeit und öftere Beaufsichtigung erfordernden Gasregulators des Viktor Meyerschen Trockenbades, indem man je nach der gewünschten Temperatur in dem Zwischenraum der Doppelwand verschiedene Flüssigkeiten im Sieden erhält und für Temperaturen von ca. 60° das Chloroform, von 70° den Methyläthylalkohol, von 80° den Äthylpropylalkohol (7:4), von 97,7 bis 100° das Wasser, von 107° das Toluol, von 136° das Xylol, von 150° das Anisol, von 161° das Kumol, von 180° das Anilin, von 200° das Naphthalin usw. benützt. Daß das einigermaßen umständlich, nicht immer sehr genau ist und eine Menge Flüssigkeiten und Mischungen erfordert, liegt auf der Hand; aber auch noch für andere Zwecke würden sich für einen rasch sich selbst regulierenden Thermoregulator Anwendungsgebiete ergeben. Das Acetylieren, das Benzoylieren, das Bromieren, kurz die verschiedensten chemischen Operationen vollziehen sich am besten bei ganz bestimmten Temperaturen, auch beim Erhitzen der Einschlußröhren im Bombenofen soll eine bestimmte Temperatur nicht überschritten werden. Ferner ist das Optimum der Ausbeute bei der Herstellung von chemischen Präparaten sehr häufig von dem durch lange Zeit notwendigen Einhalten ein und derselben Temperatur abhängig. So ist, um nur ein Beispiel herauszugreifen, zur Darstellung des Alizarins aus β-antrachinonmonosulfosaurem Natrium, Wasser und chlorsaurem Kali ein Erhitzen auf 170° durch 20 Stunden nötig.

Auch die fraktionierten Destillationen und noch eine stattliche Reihe anderer verschiedener chemischer Manipulationen ließen sich, ohne daß man erschöpfend wäre, anführen, wo das Einhalten einer gewissen Temperatur wünschenswert wäre, bzw. sich empfiehlt.

Besonders störend ist das lange Zeit in Anspruch nehmende Einstellen des Thermoregulators aber dann, wenn für bakteriologische sowie serologische und histologische Zwecke die Ausstattung nicht eine so reichhaltige ist, daß für jede Temperatur ein eigener Thermostat in Bereitschaft steht, sondern vielmehr mit einem für verschiedene Zwecke das Auskommen gefunden werden muß. Dies wird aber überall dort der Fall sein, wo in kleinen Verhältnissen gearbeitet wird, oder wo viele arbeiten.

Nicht nur, daß mit der genauen Kenntnis der Bakterien für viele derselben (Saprophyten [22°], Gärungserreger, die meisten pathogenen, Coli, thermophile Bakterien) ein bestimmtes Optimum der Temperatur sich empfiehlt, verlangen auch andere Operationen, wie das Inaktivieren, das Pasteurisieren und noch viele andere eine ganz bestimmte Temperatur. Diese Notwendigkeit empfindet also derjenige sehr oft, welcher

bakteriologisch oder auf dem Gebiete der Serologie viel und rasch zu arbeiten gezwungen ist.

Diese Umstände brachten mich auf die Idee, ein Verfahren für diese Zwecke nutzbar zu machen, welches man in ähnlicher Form mitunter bei Dampfkesseln und Desinfektionsapparaten verwendet, wo bei einer bestimmten Temperatur durch Schmelzen eines Kontaktes oder durch eine Quecksilbersäule in einer Glasröhre ein Stromkreis mit einem elektrischen Läutewerk geschlossen und dadurch letzteres in Tätigkeit gesetzt wird. Auch bei den sog. Diffusionsapparaten, die zum Anzeigen schlagender Wetter benützt werden, wird ein damit verbundenes Läutewerk auf dieselbe Weise in Funktion gesetzt.

Entsprechend dem Zwecke, den ich mir gesetzt hatte, brachte ich an Stelle des Läutewerkes ein elektro-magnetisches Absperrventil in Anwendung. Seiner Einfachheit wegen benützte ich das von Hahn. Dasselbe besteht aus einer Spule (*a*) mit zwei ineinandergeschobenen Glasröhren, von denen die äußere (*b*) unten geschlossen und bis zur Hälfte mit Quecksilber (*c*) gefüllt ist. Ein im letzteren schwimmender Eisenkern (*d*) wird von dem inneren Rohre (*e*), das als Schlauchstück oben umgebogen ist, geführt. Dann ließ ich mir einen Thermometer (*f*), eigentlich nur eine Quecksilber enthaltende geschlossene Glasröhre anfertigen, welche eine Reihe von Platindrähten eingeschmolzen enthält.

Dieses reicht mit seinem unteren Teile bis in die Mitte des Thermostaten und wird in seinem oberen Teile, um das Abreißen der Platindrähte zu verhindern, zweckmäßig an einer Holzplatte (*g*) befestigt, an welcher einerseits die verschiedenen Drähte durch angeschraubte Klemmen konstant fixiert sind, andererseits der leichtere Anschluß an die Stromquelle ermöglicht wird. Der unterste Platindraht, der sich außerhalb des Thermostaten befindet, hat die Stromzuleitung zu bewirken, die zentralen Enden der übrigen werden von der Quecksilbersäule bei 22, 37, 46, 58, 70° usw. berührt. Der öftere Gebrauch der angewendeten Temperaturen bestimmt die Anzahl der einzuschmelzenden Platindrähte und die Anzahl der Thermometer, doch empfiehlt es sich nicht über 6 bis 7 von den ersteren hinauszugehen; die Platindrähte sollen sehr dünn, die Capillare möglichst weit sein.

Je nachdem welcher Draht in den Stromkreis eingeschaltet war, wurde bei einer der oben genannten Temperaturen, bis zu welcher die Quecksilbersäule beim Erwärmen stieg, der

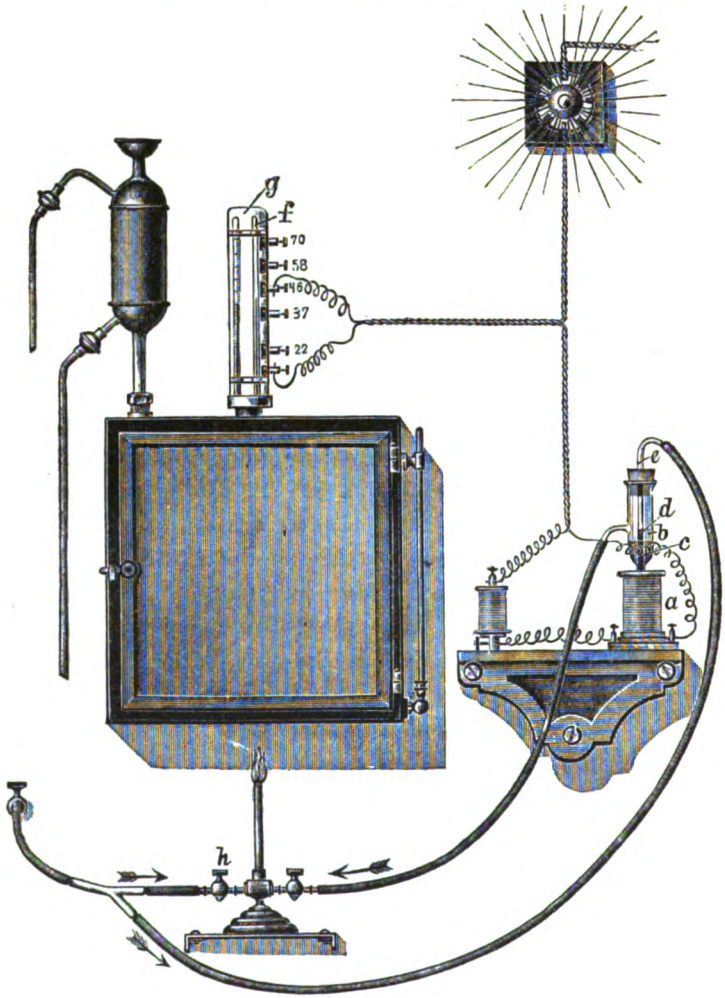


Fig. 1.

Stromkreis geschlossen, die Spule erregt, der Eisenstab im Absperrventil in den Elektromagneten gezogen, dadurch die Gaszufuhr abgesperrt, die Flamme zum Erlöschen gebracht und so ein Steigen der Temperatur über die gewünschte Höhe verhindert. Diese einfache Zusammenstellung macht nur die

Verwendung eines Bunsenbrenners nötig, bei dem Stich- und Bunsenflamme getrennte Gaszufuhrhähne haben. Diese Vorrichtung hat den Zweck, durch die Einschaltung eines Dreiwegstückes in den Gaszufuhrschlauch vor dem Eintritt in das elektromagnetische Absperrventil die Zufuhr von Gas zum Stichflammenhahn (*h*) auch dann zu gestatten und so ein Erlöschen derselben zu verhindern, wenn der Stromkreis geschlossen, die Gaszufuhr durch obengenanntes Ventil gehemmt und die Bunsenflamme zum Erlöschen gebracht wurde.

Ist man aus irgend einem Grunde gezwungen, die Stromquelle zu schonen, so hat man an der mehr oder weniger großen Zeitdifferenz zwischen Anzünden und Erlöschen der Flamme einen sicheren Maßstab, um durch das Drehen des Hahnes eine Regulierung der Flamme für die gewünschte Temperatur zu erreichen.

Als Thermostat benutzte ich einen gewöhnlichen Wassertrockenkasten. Als Stromquelle kann Gleich- und Wechselstrom verwendet werden. Da nur eine sehr geringe Stromstärke nötig ist, muß jedoch gewöhnlich als Widerstand eine Glühlampe ev. noch eine Maganinwiderstandsrolle vorgeschaltet werden. Steht kein Strom zur Verfügung, so sind 2 Akkumulatorenelemente ausreichend. Soll schließlich die Vorrichtung nur zum Einstellen des Brenners dienen, genügen auch 4 Leclanché- bzw. Beutelelemente; für eine längere Gebrauchnahme sind sie jedoch ungeeignet, weil gewöhnlich der Stromkreis zu lange geschlossen ist.

Da die Verwendung dieser Reguliervorrichtung bei Vorhandensein auch nur weniger Thermometer für die verschiedensten Zwecke gegeben ist, sowohl auf chemischem als auch insbesondere auf bakteriologischem Gebiete ein reiches Anwendungsfeld sich eröffnet, die Beschaffung einfach ist, und die Einrichtung sich durch längere Zeit vollkommen bewährt hat, so scheint sie mir wert, weiteren Kreisen empfohlen zu werden.

Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen.

Von

Walther Löb.

VII. Mitteilung.

Die Umkehrung der Zuckersynthese.

Von

Walther Löb und Georg Pulvermacher.

(Aus der chemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 20. Oktober 1909.)

Experimenteller Teil.

In der V. Mitteilung[1]) sind kurz die Resultate der Versuche über die Umkehrung der Zuckersynthese und einige Konsequenzen ihrer Ergebnisse dargelegt worden. Es erwies sich als notwendig, außer den Umkehrungsversuchen auch die bekannte Zuckersynthese aus Formaldehyd einer erneuten Prüfung von bestimmten Gesichtspunkten aus zu unterwerfen. Die hierdurch veranlaßte Häufung experimenteller Daten ließ es wünschenswert erscheinen, das Material zu teilen. In der vorliegenden Abhandlung sind die Versuche über die Umkehrung der Zuckersynthese in Gegenwart von Bleihydroxyd und Natronlauge wechselnder Konzentration zusammengestellt. Die Bleihydroxydversuche sind in Gemeinschaft mit G. Pulvermacher ausgeführt.

A. Die Einwirkung von Bleihydroxyd auf Traubenzucker.

Das Bleihydroxyd für diesen und für die folgenden Versuche wurde aus einer filtrierten 5 %igen Bleiacetatlösung durch

[1]) Diese Zeitschr. 20, 516, 1909.

Kalilauge frisch gefällt, mit Wasser, Alkohol und Äther vollständig ausgewaschen und bei 100° getrocknet.

Wir beschreiben zunächst einen einzelnen Versuch.

20 g Traubenzucker, in 500 ccm Wasser gelöst und mit 4 g Bleihydroxyd versetzt, wurden in einer verschlossenen $^1/_2$-l-Flasche — also nahezu unter Ausschluß von Sauerstoff — 20 Stunden im Thermostaten bei 70° gehalten.[1]) Die Flüssigkeit hatte sich braun gefärbt und enthielt ein braunes, unlösliches Bleisalz, dessen Menge nach dem Absaugen, Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Äther und dem Trocknen 2,8 g betrug. Durch Suspension in Wasser, Einleiten von Schwefelwasserstoff bei gewöhnlicher Temperatur und Abfiltrieren des Bleisulfids ließ sich eine Lösung der Säuren gewinnen. Dieselbe wurde im Vakuum bei einer Badtemperatur von 50° zur Trockne gebracht. Das Destillat enthielt nur Ameisensäure, die sich durch bekannte Reaktionen leicht nachweisen ließ und deren Menge durch Titration festgestellt wurde: 0,0253 g = 0,13% des angewandten Traubenzuckers.

Die bei der Destillation zurückbleibende, nicht flüchtige, halbfeste Säure, in Wasser gelöst und mit Calciumcarbonat neutralisiert, gab nach der Behandlung mit Tierkohle eine hellgelbe Lösung des Calciumsalzes, das im Vakuum vollständig zur Trockne gebracht wurde. Das Gewicht des Salzes betrug 0,5 g. Die mit einigen Kubikzentimetern Wasser hergestellte Lösung lieferte beim Einfließenlassen in einen großen Überschuß von Alkohol eine nahezu weiße Fällung des Calciumsalzes, das nach abermaligem Lösen und Fällen mit Äther nachgewaschen und erst im Vakuumexsiccator, dann im Toluolbad bis zur Gewichtskonstanz getrocknet wurde.

0,1004 g Substanz gaben 0,0222 g CaO = 15,8% Ca.

Berechnet für zukersaures Ca = $C_6H_8O_8Ca$: 16,16% Ca.

Nach dem Calciumgehalt kann es sich auch um glycerinsaures Ca handeln. Die Eigenschaften des Salzes machen es aber wahrscheinlicher, daß Zuckersäure vorliegt. Immerhin müssen wir diese Frage noch offen lassen, bis unsere in Angriff

---

[1]) Diese Vorschrift entspricht genau der von Lobry de Bruyn und van Ekenstein für die Darstellung der Formose aus Formaldehyd gegebenen. (Recueil des travaux chimiques des Pays Bas 18, 309.)

genommenen Versuche eine sichere Trennung und Identifizierung der einzelnen bei der Zuckerspaltung auftretenden Säuren gestatten.

Das erste Filtrat des braunen unlöslichen Bleisalzes enthielt noch Blei gelöst und zeigte alle Zuckerreaktionen stark. Nach der Entfernung des Bleis mittels verdünnter Schwefelsäure in der Kälte und Neutralisation des Filtrates mit kohlensaurem Kalk, gleichfalls in der Kälte, wurde die vom Calciumsulfat und überschüssigen Calciumcarbonat filtrierte Lösung der Wasserdampfdestillation bis zur Reaktionslosigkeit der übergehenden Flüssigkeit unterworfen. Das wasserklare, neutrale Destillat — 537 ccm — zeigte ausgeprägt alle Formaldehydreaktionen, von denen wir folgende erwähnen:

a) Rotfärbung mit Phenylhydrazinacetat, Ferricyankalium und Natronlauge.

b) Blaufärbung mit Phenylhydrazinacetat, Nitroprussidnatrium und Natronlauge.

c) Rosafärbung mit Resorcin und 50%iger Natronlauge. (Lebbinsche Reaktion.)

Die jodometrische Bestimmung ergab einen Gehalt von 0,0118 g Formaldehyd = 0,06% des angewandten Zuckers.

Dieser Wert ist aber zweifellos noch zu hoch, da die äußerst geringen Mengen Acetol und Methylketol durch Jodoformbildung bei der Jodtitration Fehler veranlassen. Zum Nachweis der beiden Ketone wurden 237 ccm des Destillats mit 5 ccm 10%iger Phenylhydrazinacetatlösung versetzt und einige Stunden auf dem Wasserbade erwärmt. Das ausgeschiedene Osazon ließ sich nach dem gründlichen Auswaschen mit Wasser durch Digerieren mit wenig Alkohol in einen in letzterem schwerlöslichen und einen leichtlöslichen Anteil scheiden. Der schwerlösliche, fast weiße Rückstand, mit wenig kaltem Alkohol nachgewaschen, gab mit Eisenchlorid und Äther die für die Diketone charakteristische v. Pechmannsche Reaktion[1]) und schmolz bei 239 bis 240°. Reines Diacetylosazon schmilzt bei 243°. Das alkoholische Filtrat enthielt Spuren von Metylglyoxalosazon, das sich durch seine Lösungsfarbe in konzentrierter Schwefel-

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 2754, 1888.

säure und in einigen Versuchen — meist reichte die Menge nicht aus — durch den Schmelzpunkt 148° identifizieren ließ.

Die mit Wasserdampf behandelte Flüssigkeit enthielt noch Zucker und Calciumsalze. Zur Trennung der verschiedenen Bestandteile wurde zunächst das Wasser im Vakuum bei 50° vollständig abdestilliert und der sirupöse Rückstand zuerst mit 250 ccm absolutem, dann mit 250 ccm 90%igem Alkohol, schließlich nochmals mit 100 ccm absolutem Alkohol am Rückflußkühler je 1 Stunde ausgekocht. Die vereinigten Filtrate lieferten nach dem Eintrocknen im Vakuum 14 g Zucker, hauptsächlich Traubenzucker, daneben aber Pentose und sehr wahrscheinlich Spuren von Pentiten bzw. Hexiten.

Zur Entfernung des Traubenzuckers diente in diesem Versuche die Vergärung mit Hefe, von der 5 g zu der 5%igen Lösung des ganzen Rückstandes gesetzt wurden. Die Vergärung bei 37° wurde in 2 Tagen bis zu Ende durchgeführt und das Fehlen von Traubenzucker mittels des Gärungsröhrchens am Filtrat unter Zusatz frischer Hefe kontrolliert.

Die nach der Gärung filtrierte, im Vakuum zur Trockne gebrachte Lösung gab nach dem Aufnehmen des Rückstandes in heißem Alkohol, Filtrieren und Abdestillieren des Alkohols im Vakuum 3 g feste Substanz, die in 45 ccm absoluten Alkohols gelöst wurden.

30 ccm dieser Lösung hinterließen, wieder eingedampft, 2 g Substanz, die in 10 ccm 50%iger Schwefelsäure gelöst und mit 5 g frisch destilliertem Benzaldehyd 10 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur geschüttelt wurden. Die stark verdünnte Reaktionsflüssigkeit enthielt nach den Abtreiben des unverbrauchten Benzaldehyds durch Wasserdampf eine kleine Menge einer in Wasser unlöslichen Benzalverbindung, die sich nach Filtrieren, Auswaschen und Trocknen durch Lösen in Chloroform und Fällen mit Ligroin reinigen ließ. Nach zweimaligem Umfällen resultierte ein grauweißes Pulver, dessen Schmelzpunkt 195° durch Wiederholung des Lösens im Chloroform und der Fällung durch Ligroin auf 212° gesteigert wurde.

Da die Menge dieser Benzalverbindung eine äußerst geringe war, wurde die schwefelsaure Lösung nach der Befreiung von dem Benzaldehyd und der ausgeschiedenen Benzalverbindung nochmals mit Calciumcarbonat neutralisiert, zur Trockene gebracht

und der Rückstand in absolutem Alkohol aufgenommen. Nach der Filtration hinterließ der Alkohol 1,5 g Substanz, die genau wie vorher mit Benzaldehyd und 50%iger Schwefelsäure 20 Stunden auf der Maschine geschüttelt wurden. Es bildeten sich in der Tat noch geringe Mengen der gleichen Benzalverbindung, die wieder mit Chloroform und Ligroin gereinigt werden konnte und den gleichen Schmelzpunkt besaß.

Ein Schluß aus diesen Befunden auf das Auftreten von Pentiten bzw. Hexiten kann nur ein Wahrscheinlichkeitsschluß sein. Derselbe stützt sich vornehmlich darauf, daß nach besonderen Versuchen Pentosen und Hexosen unter den angewandten Bedingungen keine Benzalverbindungen liefern.

Von der alkoholischen Lösung des Gärungsrückstandes wurden die noch restierenden 10 ccm zur Trockne gebracht und der etwa 1 g betragende Rückstand in 10 ccm Wasser gelöst. Diese Lösung zeigte klar und ausgeprägt die Orcin- und Phloroglucinreaktion auf Pentose. Nach Zusatz von 10 ccm 10%iger Phenylhydrazinacetatlösung schied sich bei 12stündigem Verweilen im Brutschrank eine gelbe Substanz aus, die nach mehrmaligem Umlösen aus Wasser Aussehen und Schmelzpunkt 169° eines Arabinosazons zeigten. Da in anderen Versuchen die Entstehung der Pentose durch Furfuroldarstellung nach Tollens[1]) qualitativ und quantitativ durchgeführt war, so diente das Osazon zur weiteren Bestätigung.

Nach dem Auskochen des trocknen Gemisches der Calciumsalze und des Zuckers (aus dem ersten Filtrat von dem unlöslichen Bleisalz nach der Neutralisation mit Calciumcarbonat und der Behandlung mit Wasserdampf) mit Alkohol waren die in diesem unlöslichen Calciumsalze zurückgeblieben. Zur Trennung der Säuren wurde das Calcium zunächst durch einen Überschuß von Oxalsäure gefällt und die Flüssigkeit ohne Filtration der Wasserdampfdestillation unterworfen. Das Destillat (750 ccm) enthielt noch 0,0856 g Ameisensäure = 0,43% des angewandten Zuckers.

Der Rückstand der Dampfdestillation wurde zur Entfernung der Oxalsäure mit kohlensaurem Calcium neutralisiert und filtriert. Das Filtrat, im Vakuum zur Trockne gebracht und in

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 2150, 1888; 23, 1751, 1890; 24, 695, 1891.

wenigen Kubikzentimetern Wasser gelöst, gab beim Einfließenlassen in viel Alkohol 3 g eines weißen Calciumsalzes, dessen Kalkgehalt nach Wiederholung der Reinigung und nach dem Trocknen im Vakuumexsiccator und im Toluolbad festgestellt wurde.

0,2200 g Substanz gaben 0,0362 g CaO = 11,75% Ca; nach nochmaligem Umfällen:

0,1445 g Substanz gaben 0,0249 g CaO = 12,31% Ca.

Es ist natürlich nicht möglich, aus einer solchen Analyse einen sicheren Schluß auf die Natur der Polyoxysäure oder eines Gemisches mehrerer zu ziehen. Bei den zahlreich ausgeführten Versuchen schwankten die Calciumwerte beträchtlich. Meist lagen die Daten nahe dem obigen, was auf erythronsaures Calcium (Ca: 12,9%) hinweisen könnte. Einige Male war der Gehalt an Calcium weit höher und stimmte mit 18% bis 19% annähernd auf trioxyglutarsaures Calcium (Ca: 18,35%). Es scheint, daß die Natur der nicht flüchtigen Säure, die ein lösliches Bleisalz bildet und dadurch im Reaktionssystem vorhanden bleibt, von den Mengenverhältnissen, der Dauer und der Temperatur des Versuches sehr abhängt, im Gegensatz zu der das unlösliche Bleisalz bildenden Säure, die nach Trennung von der Ameisensäure bei allen Versuchen den Calciumgehalt der Zuckersäure bzw. der Glycerinsäure zeigte.

Die Bearbeitung der Reaktionsflüssigkeit war im allgemeinen bei allen Versuchen die gleiche. Nur wurden häufiger zur Erledigung von Spezialfragen, wie der quantitativen Bestimmung der Pentosen u. a., die notwendigen Variationen vorgenommen.

Bevor wir die Daten anderer Versuche tabellarisch zusammenstellen, seien noch zwei Abänderungen des Versuchsganges hervorgehoben, die sich auf den qualitativen Nachweis des Formaldehyds und der Pentose — der für das vorliegende Problem wesentlichsten Spaltprodukte des Zuckers — beziehen.

Um neben den qualitativen Formaldehydreaktionen noch eine chemisch sichere Identifizierung zu erreichen, wurde das neutrale Dampfdestillat der ursprünglichen, vom Bleisalz befreiten und mit Calciumcarbonat neutralisierten Reaktionsflüssigkeit nach Blank und Finkenbeiner[1]) mit Wasserstoffperoxyd in alkalischer Lösung oxydiert und nach dem Ansäuern

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 31, 2979, 1898; 32, 2141, 1899.

mit Schwefelsäure destilliert. Aus dem Destillat wurde reines ameisensaures Barium gewonnen.

Ferner war es möglich, daß entweder die Vergärung mit Hefe an der Bildung des Pentosazons vom Schmelzpunkt 169° beteiligt ist oder daß ein Teil der Pentose in Gegenwart des Traubenzuckers mit vergoren wird, wodurch die an und für sich so geringe Ausbeute weiter sinkt.[1])

Deshalb wurde bei einem mit 50 g Traubenzucker, 10 g Bleihydroxyd und 1250 ccm Wasser unter den gleichen Bedingungen ausgeführten Versuche der alkohollösliche Zuckersirup zu 20%iger Lösung in Wasser gelöst und ohne Vergärung mit Phenylhydrazinacetatlösung versetzt. Die ausgeschiedenen Osazone, vorwiegend natürlich Glucosazon, ließen sich durch Umkrystallisieren aus heißem Wasser trennen. Bereits nach zweimaligem Umlösen aus Wasser schied sich das Pentosazon frei von Glucosazon aus; es schmolz scharf bei 169° unter Aufschäumen. Nach dem Schmelzpunkt, den Lösungseigenschaften und dem mikroskopischen Bilde handelte es sich um dasselbe Pentosazon, das bei der Elektrolyse des Traubenzuckers erhalten worden war.[2])

Es lag nahe, um die Ausbeuten zu verbessern, den Versuch dieser Umkehrung der Zuckersynthese in größerem Maßstabe zu wiederholen. Leider war der Erfolg dieser Bemühungen ein negativer. Die schon bei geringen Mengen großen Schwierigkeiten der Trennung und Reinigung der Substanzen wuchsen mit der Menge des zu verarbeitenden Materials.

Wir setzten 480 g Traubenzucker mit 95 g Bleihydroxyd und 12 l Wasser in einem verschlossenen Blechgefäß 6 Tage der Temperatur von 70° im Thermostaten aus. An unlöslichem Bleisalz wurden 66 g gewonnen, aus dem 0,22 g Ameisensäure nach der Zersetzung mit Schwefelwasserstoff abdestilliert wurden. Das Calciumsalz der nicht flüchtigen Säure war zunächst braun gefärbt. Es bedurfte häufiger Lösung in Wasser, Auskochen

---

[1]) Reine Arabinose wird durch Hefe nicht vergoren; auch in Gegenwart leicht vergärbarer Zucker tritt nach Croß, Bevan und Smith keine Pentosengärung durch Hefe ein. (Vgl. v. Lippmann, Chemie der Zuckerarten, 3. Aufl., 1904, S. 73.)

[2]) Diese Zeitschr. 17, 140, 1909.

mit Tierkohle und Fällung mit Alkohol, um schließlich aus der ganzen Menge nur 6 g des nahezu weißen Salzes zu isolieren.

0,111 g gaben 0,025 g CaO = 16,09% Ca,

Berechnet für zuckersaures Ca = 16,16% Ca.

Nach der Entbleiung und Neutralisation des Filtrates vom Bleisalz mit Calciumcarbonat wurden über $8^1/_2$ l zur Prüfung auf Formaldehyd, Acetol und Methylketol abdestilliert. In der Erwartung einer größeren Menge Formaldehyd versuchten wir mit 4 l des Destillats durch p-Diphenylendihydrazin die von Neuberg[1]) beschriebene Verbindung zu gewinnen. Es entstand auch alsbald ein schwerlösliches, orangefarbenes Pulver, das sich aber nicht abfiltrieren ließ. Entweder ging es als Trübung durch das Filter oder es verstopfte die Poren und verhinderte die Filtration. Deshalb wurde die ganze Flüssigkeitsmenge zentrifugiert. Der Bodensatz enthielt noch anorganische Substanzen, und bei den mannigfachen Reinigungsversuchen wurde die schließlich zur Analyse bleibende Menge zu gering, so daß wir hier nicht über den qualitativen Nachweis hinauskamen.

Die andere Hälfte des Destillats (etwa $4^1/_2$ l) gab 0,8 g Osazon, das zur Hälfte als Diacetylosazon (Schmelzpunkt nach einmaligem Krystallisieren 237°), zur Hälfte aus Methylglyoxalosazon bestand.

Der in der weiteren Bearbeitung erhaltene alkoholische Zuckerextrakt gab 327 g Zucker, die in 20%iger Lösung mit 50 g Hefe völlig vergoren wurden. Nach der Filtration und der Ausfällung gelöster Albumosen mit kolloidaler Eisenhydroxydlösung nach Michaelis und Rona[2]) resultierte ein nicht weiter vergärbarer Rückstand von 60 g, die in 600 ccm Wasser gelöst wurden. Die Lösung zeigte deutlich die Bialsche Reaktion.

50 ccm, der Furfuroldestillation unterworfen, gaben 0,1136 g des Phloroglucids d. h. etwa 2,7% des nicht vergärbaren Rückstandes bestanden aus Pentose.

Die Versuche, das Pentosazon und die Benzalverbindungen darzustellen, lieferten so unreine Produkte, daß sich schließlich bei weit größerer experimenteller Arbeit auch hinsichtlich der Ausbeute kein Vorteil gegenüber den in kleinem Maßstabe durchgeführten Versuchen ergab.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 32, 1961, 1899.

[2]) Diese Zeitschr. 7, 329; 13, 121; 14, 476, 1908.

Der Calciumgehalt der Säure, deren Bleisalz in Lösung geblieben war, betrug nach der Entfernung von noch 2,8 g Ameisensäure, nach sehr häufig wiederholter Reinigung aus Wasser und Alkohol 18% bis 19%.

0,1244 g Substanz gaben 0,0308 g CaO = 17,69% Ca.

Nach mehrfach wiederholter Umfällung:

0,123 g Substanz gaben 0,033 g CaO = 19,16% Ca.

Trioxyglutarsaures Calcium verlangt 18,35% Ca.

Wir geben nunmehr außer den beschriebenen noch diejenigen Versuche und ihre Resultate tabellarisch wieder, in denen die Versuchsbedingungen, vornehmlich die Temperatur, von den eben geschilderten abweichen, während die Aufarbeitung, von unwesentlichen Variationen abgesehen, die gleiche blieb.

Nr.	Zusammensetzung der Reaktionsmischung	Versuchstemp.	Dauer	Bemerkung	Ergebnis der Versuches
1	20 g Zucker, 4 g Bleihydroxyd, 500 ccm Wasser	70°	20 Std.	Im Thermostat	Formaldehyd[1]): 0,0118 g, Pentose[2]), Acetol, Dimethylketol, Ameisensäure: 0,1109 g, Pentit[3])(?) Zuckersäure, Erythronsäure.
2	480 g Zucker, 95 g Bleihydroxyd, 12 l Wasser	70°	6 Tage	"	Formaldehyd[4]), Pentose[5]): 1,56 g, Acetol + Dimethylketol: 0,8 g Osazone, Ameisensäure: 3,02 g, Zuckersäure, Trioxyglutarsäure (?).
3	10 g Zucker, 2 g Bleihydroxyd, 250 ccm Wasser	70°	6 Std.	"	Formaldehyd: 0,011 25 g, Pentose: 0,341 g, Zuckersäure, kein Dioxyaceton, kein Glycerinaldehyd.

[1]) Qualit. nachgewiesen durch CH_2O-Reaktionen und als Ameisensäure.

[2]) Nachweis als Osazon.

[3]) Darstellung der Benzalverbindung.

[4]) Qualit. Nachweis als Methylendiphenylendihydrazon.

[5]) Durch Furfuroldestillation.

Nr.	Zusammensetzung der Reaktionsmischung	Versuchstemp.	Dauer	Bemerkung	Ergebnis des Versuches
4	„	70°	24 Std.	„	Formaldehyd: 0,0127 g, Pentose, Pentit (?), Zuckersäure (Ca-Salz: 15,6% Ca), Erythronsäure (?) (Ca-Salz: 12,5% Ca).
5	„	Siedetemp.	1 Std.	Am Rückflußkühler	Formaldehyd: 0,012 g, Pentose, Ameisensäure, Zuckersäure, andere Polyoxysäuren.
6	15 g Zucker, 10 g Bleihyroxyd, 200 ccm Wasser	„	8 Std.	„	Langsame, aber kontinuierliche Abspaltung von CO_2, Ameisensäure: 0,293 g, Erythronsäure (?) (Ca-Salz: 12,61% Ca), Pentit (?)
7	10 g Zucker, 3 g Bleihydroxyd, 200 ccm Wasser	„	„	„	Formaldehyd, Pentose, Pentit (?) (Benzalverbindung 215°). Kein Alkohol (Prüfung mit Benzoylchlorid).
8	10 g Zucker, 2 g Bleihydroxyd, 250 ccm Wasser	Zimmertemp.	7 Std.	Auf der Schüttelmaschine	Formaldehyd: 0,0085 g, Pentose.
9	10 g Zucker, 2 g Bleihydroxyd, 250 ccm Wasser	„	6 Std.	„	Formaldehyd, Pentose, Ameisensäure, Polyoxysäuren (alle nur qualitativ nachgewiesen).

Nur ein Teil der ausgeführten Versuche ist hier wiedergegeben. Diejenigen, welche lediglich dem qualitativen, sicheren Nachweis von Formaldehyd und Pentose dienten, sind nicht besonders vermerkt. Das regelmäßige Auftreten der beiden Substanzen, wenn auch stets in sehr geringer Menge, konnte bei allen diesen Versuchen, unabhängig von der Zusammensetzung der Reaktionsmischung (innerhalb der geprüften Grenzen) und unabhängig von der Temperatur, konstatiert werden.

Bezüglich der analytischen Daten ist einiges zu bemerken. Wie erwähnt, sind die jodometrischen Formaldehydbestimmungen wegen der Anwesenheit des Acetols und Methylketols zu hoch; aber die Werte sind nicht zu weit von den richtigen entfernt, wie durch den Vergleich der qualitativen Farbenreaktionen der Versuchslösungen mit solchen, die entsprechend verdünnte Formaldehydlösungen zeigten, festgestellt werden konnte.

Das Nichtauftreten von Milchsäure, Alkohol, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton wurde an besonderen Versuchen konstatiert. Als Reagens auf Glycerinaldehyd diente Phloroglucin, auf Dioxyaceton Methylphenylhydrazin. Der Nachweis freier Kohlensäure gelang nur in den bei Siedetemperatur ausgeführten Versuchen.

Der Beantwortung einiger bestimmter Fragen dienten besondere Versuche.

Es ist schon erwähnt worden, daß Glucose unter den gewählten Bedingungen keine Benzalverbindung mit Benzaldehyd gibt.

Es wurden 10 g Traubenzucker mit 30 ccm 50%iger Schwefelsäure und 20 g Benzaldehyd 24 Stunden auf der Schüttelmaschine bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach dem Abdestillieren des Benzaldehyds aus der stark mit Wasser verdünnten Flüssigkeit durch Wasserdampf blieb eine klare Lösung ohne irgendwelchen Niederschlag zurück, deren polarimetrische Untersuchung den ursprünglichen Zuckergehalt ergab.

Anläßlich der bei der Siedetemperatur ausgeführten Versuche, deren Ergebnis, wie auch das der anderen qualitativ mit dem bei der elektrischen Oxydation des Traubenzuckers erhaltenen übereinstimmt, drängte sich die Frage nach der Mitwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs bei den zweifellos auftretenden Oxydationsvorgängen auf.

Es wurde eine Mischung von 10 g Traubenzucker, 2 g Bleihydroxyd und 250 ccm Wasser unter stetigem Durchleiten von Wasserstoff 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Genau wie bei Fehlen des Wasserstoffs schied sich alsbald unter Braunfärbung der Lösung das unlösliche braune Bleisalz ab. Nach entsprechender Aufarbeitung konnten Formaldehyd, Acetol, Dimethylketol und Pentose qualitativ nachgewiesen werden. Auch zeigte der Ca-Gehalt des Calciumsalzes aus der ein lös-

liches Bleisalz bildenden Säure mit 11,91% nahe den Wert des erythronsauren Salzes. Aus dem unlöslichen Bleisalz (Zuckersäure) wurde nach Entfernung der Ameisensäure eine zur Analyse nicht ausreichende Menge des reinen Ca-Salzes isoliert.

Es geht aus diesem Versuche unzweifelhaft hervor, daß auch in Gegenwart von Luft bei Siedetemperatur die Oxydationen auf intramolekularen Umwandlungen beruhen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei der Einwirkung von Bleihydroxyd auf Traubenzucker eine Spaltung in Formaldehyd und eine Pentose, deren Natur bisher nicht festgestellt worden ist, eintritt. Damit ist die Umkehrbarkeit der Zuckersynthese aus Formaldehyd unter den gleichen Bedingungen bewiesen.

Ich erinnere daran, daß auch bei der Formaldehydkondensation das Auftreten einer Pentose nachgewiesen ist.[1]) Besondere Versuche über die Einwirkung von Bleihydroxyd auf Formaldehyd zeigten, daß die Umkehrung des ganzen Vorganges sich nicht nur auf die Reaktion:

$$C_6H_{12}O_6 = CH_2O + C_5H_{10}O_5$$

bezieht, sondern daß auch das Auftreten der verschiedenen Säuren höchstwahrscheinlich an umkehrbare Reaktionen gebunden ist. Auf diese Frage werden wir demnächst zurückkommen.

Bei der Bearbeitung der Versuche war häufig, wie mehrfach erwähnt, nach der Vergärung mit Hefe die Reaktion auf Pentosen ausgeführt worden. Es wurde deshalb besonders geprüft, ob die Vergärung aus reinem Traubenzucker nicht Veranlassung zum spurenweisen Auftreten von Pentose gibt. Der mit 20 g Zucker, 200 ccm Wasser und Hefe (Rasse D der Versuchsbrauerei zu Berlin) ausgeführte Versuch fiel vollständig negativ aus. Nach Filtration der Mischung und Enteiweißung mit kolloidaler Eisenhydroxydlösung konnte keine Spur einer Pentose gefunden werden. Daß Pentosen durch Hefe nicht, auch nicht in Gegenwart von Traubenzucker vergoren werden, ist, wie schon hervorgehoben, festgestellt.

---

[1]) Vgl. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 990, 1888 und C. Neuberg, ibid. 35, 2632, 1902.

Bezüglich der analytischen Daten ist einiges zu bemerken. Wie erwähnt, sind die jodometrischen Formaldehydbestimmungen wegen der Anwesenheit des Acetols und Methylketols zu hoch; aber die Werte sind nicht zu weit von den richtigen entfernt, wie durch den Vergleich der qualitativen Farbenreaktionen der Versuchslösungen mit solchen, die entsprechend verdünnte Formaldehydlösungen zeigten, festgestellt werden konnte.

Das Nichtauftreten von Milchsäure, Alkohol, Glycerinaldehyd und Dioxyaceton wurde an besonderen Versuchen konstatiert. Als Reagens auf Glycerinaldehyd diente Phloroglucin, auf Dioxyaceton Methylphenylhydrazin. Der Nachweis freier Kohlensäure gelang nur in den bei Siedetemperatur ausgeführten Versuchen.

Der Beantwortung einiger bestimmter Fragen dienten besondere Versuche.

Es ist schon erwähnt worden, daß Glucose unter den gewählten Bedingungen keine Benzalverbindung mit Benzaldehyd gibt.

Es wurden 10 g Traubenzucker mit 30 ccm 50%iger Schwefelsäure und 20 g Benzaldehyd 24 Stunden auf der Schüttelmaschine bei Zimmertemperatur geschüttelt. Nach dem Abdestillieren des Benzaldehyds aus der stark mit Wasser verdünnten Flüssigkeit durch Wasserdampf blieb eine klare Lösung ohne irgendwelchen Niederschlag zurück, deren polarimetrische Untersuchung den ursprünglichen Zuckergehalt ergab.

Anläßlich der bei der Siedetemperatur ausgeführten Versuche, deren Ergebnis, wie auch das der anderen qualitativ mit dem bei der elektrischen Oxydation des Traubenzuckers erhaltenen übereinstimmt, drängte sich die Frage nach der Mitwirkung des atmosphärischen Sauerstoffs bei den zweifellos auftretenden Oxydationsvorgängen auf.

Es wurde eine Mischung von 10 g Traubenzucker, 2 g Bleihydroxyd und 250 ccm Wasser unter stetigem Durchleiten von Wasserstoff 2 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Genau wie bei Fehlen des Wasserstoffs schied sich alsbald unter Braunfärbung der Lösung das unlösliche braune Bleisalz ab. Nach entsprechender Aufarbeitung konnten Formaldehyd, Acetol, Dimethylketol und Pentose qualitativ nachgewiesen werden. Auch zeigte der Ca-Gehalt des Calciumsalzes aus der ein lös-

liches Bleisalz bildenden Säure mit 11,91% nahe den Wert des erythronsauren Salzes. Aus dem unlöslichen Bleisalz (Zuckersäure) wurde nach Entfernung der Ameisensäure eine zur Analyse nicht ausreichende Menge des reinen Ca-Salzes isoliert.

Es geht aus diesem Versuche unzweifelhaft hervor, daß auch in Gegenwart von Luft bei Siedetemperatur die Oxydationen auf intramolekularen Umwandlungen beruhen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß bei der Einwirkung von Bleihydroxyd auf Traubenzucker eine Spaltung in Formaldehyd und eine Pentose, deren Natur bisher nicht festgestellt worden ist, eintritt. Damit ist die Umkehrbarkeit der Zuckersynthese aus Formaldehyd unter den gleichen Bedingungen bewiesen.

Ich erinnere daran, daß auch bei der Formaldehydkondensation das Auftreten einer Pentose nachgewiesen ist.[1]) Besondere Versuche über die Einwirkung von Bleihydroxyd auf Formaldehyd zeigten, daß die Umkehrung des ganzen Vorganges sich nicht nur auf die Reaktion:

$$C_6H_{12}O_6 = CH_2O + C_5H_{10}O_5$$

bezieht, sondern daß auch das Auftreten der verschiedenen Säuren höchstwahrscheinlich an umkehrbare Reaktionen gebunden ist. Auf diese Frage werden wir demnächst zurückkommen.

Bei der Bearbeitung der Versuche war häufig, wie mehrfach erwähnt, nach der Vergärung mit Hefe die Reaktion auf Pentosen ausgeführt worden. Es wurde deshalb besonders geprüft, ob die Vergärung aus reinem Traubenzucker nicht Veranlassung zum spurenweisen Auftreten von Pentose gibt. Der mit 20 g Zucker, 200 ccm Wasser und Hefe (Rasse D der Versuchsbrauerei zu Berlin) ausgeführte Versuch fiel vollständig negativ aus. Nach Filtration der Mischung und Enteiweißung mit kolloidaler Eisenhydroxydlösung konnte keine Spur einer Pentose gefunden werden. Daß Pentosen durch Hefe nicht, auch nicht in Gegenwart von Traubenzucker vergoren werden, ist, wie schon hervorgehoben, festgestellt.

---

[1]) Vgl. E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 990, 1888 und C. Neuberg, ibid. 35, 2632, 1902.

B. Die Einwirkung von Natronlauge auf Traubenzucker.

Es schien mir notwendig, diese schon oft untersuchte Reaktion von den Gesichtspunkten aus, die mich bei meiner Arbeit leiteten, einer erneuten Prüfung zu unterwerfen. Bei der Alkalescenz des Blutes in Gegenwart von Natriumionen und Hexose ist die Frage, ob auch unter diesen Bedingungen eine Umkehrung des synthetischen Vorgangs stattfindet, von großem Interesse.

Die folgenden Versuche liefern den Nachweis, daß diese Vermutung in verdünnten alkalischen Lösungen, auch wenn die Konzentration nur der Blutalkalescenz entspricht, zutrifft.

Da die Einwirkung von Natronlauge auf Traubenzucker bezüglich des Auftretens einer Reihe von Substanzen, wie Glycerinaldehyd, Dioxyaceton, Milchsäure[1]) u. a., schon häufig Gegenstand sorgfältiger Versuche war, so konnte ich mich auf die für mich wesentliche Frage nach der Entstehung von Formaldehyd und Pentose beschränken. Bei der Bearbeitung wurde nach dem Ansäuern mit Phosphorsäure bis auf ein kleines Volum abdestilliert und weiter Wasserdampf durchgeleitet, bis das Destillat neutral überging. Das Destillat diente zu der Bestimmung der Ameisensäure und des Formaldehyds. Zu dem Zwecke wurde ein Teil des Destillats direkt titriert, der größere Teil mit Bariumcarbonat neutralisiert und einer erneuten Wasserdampfdestillation unterworfen, so lange, bis alle qualitativen Reaktionen negativ ausfielen.

Mit dem letzten Destillat führte ich die Reaktionen auf Formaldehyd und andere flüchtige Aldehyde und die jodometrische Bestimmung aus.

Der phosphorsaure Destillationsrückstand wurde mit Calciumcarbonat neutralisiert — die vollständige Neutralisation erfordert trotz eines Überschusses an Carbonat mehrstündiges Schütteln oder Rühren —, die filtrierte Lösung, welche meist die Bialsche Reaktion deutlich zeigt, entweder vergoren und im Filtrat des Gärungsgemisches nach der Behandlung mit kolloidaler Eisenhydroxydlösung die Pentosenreaktionen geprüft und das Pentosazon dargestellt, oder es wurde sofort die neu-

[1]) Vgl. z. B. Meisenheimer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1009, 1908.

tralisierte und filtrierte Lösung mit Phenylhydrazin behandelt und die ausfallenden Osazone durch wiederholte Krystallisation aus heißem Wasser getrennt.

Ich stelle die Resultate einiger Versuche tabellarisch zusammen.

Nr.	Zusammensetzung der Reaktionslösung	Versuchstemp.	Dauer	Bemerkung	Ergebnis des Versuches
1	25ccm Zuckerlösung (5%), 100ccm NaOH ($^n/_{10}$) + 10 ccm Wasser	37°	20 Std.	Die Alkalescenz entspricht etwa der Blutalkalescenz. — Unter dauernder Sauerstoffdurchleitung	Ameisensäure: 0,031 g; Formaldehydreaktionen sehr schwach vorhanden, Pentosenreaktionen deutlich.
2	25ccm Zuckerlösung (5%), 100ccm NaOH ($^n/_{10}$) + 10 ccm $FeSO_4$-Lsg. (1%)	„	„	„	Ameisensäure: 0,024 g; Formaldehydreaktionen schwach vorhanden. Pentosenreaktionen nach Vergärung des Traubenzuckers deutlich.
3	25ccm Zuckerlösung (5%), 100ccm NaOH ($^n/_{10}$) + 10 ccm $MnSO_4$ (1%)	„	„	„	Ameisensäure: 0,099 g. Das andere wie bei Vers. 2.
4	Zusammensetzung wie 1	„	„	„	Formaldehyd: 0,00123 g. Pentose als Osazon qualitativ nach Vergärung nachgewiesen. Ameisensäure: 0,065 g.
5	Zusammensetzung wie 2	„	„	„	Formaldehyd: 0,0035 g. Sonst wie Vers. 4. Ameisensäure: 0,065 g.
6	Zusammensetzung wie 3	„	„	„	Formaldehyd: 0,0038 g. Sonst wie oben. Ameisensäure 0,048 g.

Nr.	Zusammensetzung der Reaktionslösung	Versuchstemp.	Dauer	Bemerkung	Ergebnisse des Versuches
7	23ccm Zuckerlösung (5%) 91 ccm NaOH ($^n/_{10}$)	37°	20 Std.	In brauner, fest verschlossener Flasche. Ohne Sauerstoff	Verbrauch an NaOH: 0,348 g (ursprünglich 0,364 g). Formaldehyd und Pentosen qualitativ hingewiesen.
8	18,6 g Zucker, 2 l NaOH ($^n/_{10}$)+115ccm Wasser	Zimmertemp.	10 Tage	Ohne Sauerstoff. Im verschlossenen Gefäß. Blutalkalescenz	Verbrauch an NaOH: 2,42 g, Formaldehyd: 0,123 g. Acetol, Dimethylketol, Ameisensäure: 0,243 g. Pentose als Osazon nachgewiesen.
9	18,6 g Zucker, 2 l NaOH ($^n/_{10}$)+115ccm H_2O_2-Lsg. (10 Vol.-%)	„	„	„	Verbrauch an NaOH: 2,92 g, Formaldehyd: 0,0975 g, Acetol, Dimethylketol (v. Pechmanns Reaktion), Ameisensäure. Pentose als Osazon nachgewiesen.
10	20 g Zucker, 435 ccm Wasser, 17,8 g NaOH	„	8 Tage	Ohne Sauerstoff. Im verschlossenen Gefäß	Verbrauch an NaOH: 12,8 g. Formaldehydreaktionen sehr schwach. Ameisensäure 0,0414 g. Pentose als Osazon isoliert.

Zu diesen Versuchen ist folgendes zu bemerken: Die Versuche 1 bis 6 sind annähernd bei Blutalkalescenz unter Sauerstoffdurchleitung z. T. unter Zusatz von Eisenoxydulsulfat und Mangansulfat ausgeführt. Diese Anordnung steht mit seit längerer Zeit in Angriff genommenen Versuchen über die enzymatische und katalytische Zuckerzerstörung im Zusammenhang. Ich glaube, diese Versuche ohne nähere Erläuterung über die Bedeutung der Zusätze und des Sauerstoffs auch hier anführen zu sollen, um zu zeigen, unter wie wechselnden Bedingungen die typische Zuckerspaltung in Formaldehyd und Pentose eintritt und nachweisbar ist. Alle Formaldehydwerte sind wegen der Gegenwart der Jodoform liefernden Ketone zu hoch. Sie sind aber nach qualitativer Sicherstellung des Formaldehyds und der Ketone als Maß für diesen Teil des Spaltungsvorganges brauchbar und, um eine einheitliche Berechnungsform zu haben, als Formaldehydwerte hingeschrieben. Dem Nach-

weis der Pentose diente die Furfurol- und die Osazonbildung. Das Pentosazon wurde durch seine Abscheidungsform aus heißem Wasser und seinen Schmelzpunkt (166 bis 169°) identifiziert.

Versuch 9 zeigt, daß durch Wasserstoffperoxyd eine wesentliche Verschiebung der Spaltung des Zuckers in Formaldehyd und Pentose nicht eintritt. Die Ameisensäurebildung ist hingegen beträchtlich hinter der in Versuch 8 zurückgeblieben.

In Versuch 10 schließlich sind höhere Konzentrationen an Alkali, wie sie vor kurzem Meisenheimer[1]) benutzte, gewählt. Hier sind die Bedingungen für den Bestand des Formaldehyds offenbar ungünstig, für die Pentose günstiger. Vielleicht unterliegt der Formaldehyd bei der stärkeren Alkalikonzentration weiteren synthetischen Reaktionen, die für eine Pentose nicht existieren. Der mehrfach angegebene Verbrauch an Alkali läßt mit den Werten für die entstandene Ameisensäure erkennen, wie weitgehend die Bildung der Polyoxysäuren (bzw. der Milchsäure) an den intramolekularen Vorgängen beteiligt ist.

Eine Formulierung der chemischen Prozesse, die sich in alkalischen Zuckerlösungen abspielen, ist bei ihrer Kompliziertheit und der unzureichenden Kenntnis der Einzelvorgänge vorläufig noch ausgeschlossen. Der Schluß läßt sich jedoch aus den Versuchen mit Sicherheit ziehen, daß auch in ganz verdünnten alkalischen Lösungen eine Spaltung des Traubenzuckers in Formaldehyd und Pentose eintritt, die bei den dem entgegengesetzten Prozeß der Synthese äußerst günstigen Bedingungen natürlich nur zu sehr geringen Konzentrationen dieser Spaltprodukte führt. Die Annahme aber, daß dieser nur in kleinem Umfange eintretende Vorgang im geeigneten Medium den Beginn einer an ihn sich anschließenden und durch ihn eingeleiteten Reaktionskette zu sein vermag, ist durchaus wahrscheinlich. Anläßlich der angedeuteten katalytischen und enzymatischen Versuche gedenke ich, auf diese Fragen eingehender zurückzukommen.

Zusammenfassung.

Die in dieser Arbeit und in meinen früheren Mitteilungen beschriebenen Versuche zeigen, daß der Traubenzucker bei der Spaltung unter der Einwirkung von Hydroxylionen

[1]) l. c.

(Bleihydroxyd, Natriumhydroxyd) sowie unter dem Einfluß oxydierender[1]) und reduzierender[2]) Agenzien in Formaldehyd und Pentose gespalten wird, wobei gleichzeitig noch intramolekulare Verschiebungen (Umlagerungen in andere Zuckerarten[3]) und intramolekulare Oxydationen (Bildung von Polyoxysäuren) eintreten.

Man weiß bereits aus früheren Versuchen[4]), daß bei der Zuckersynthese aus Formaldehyd Pentose[5]) entsteht, so daß aus dem Versuchsmaterial folgendes mit Sicherheit hervorgeht:

1. Die Zuckersynthese aus Formaldehyd ist ein umkehrbarer Vorgang.

2. Formaldehyd und Pentose sind Phasen der Zuckerspaltung und Zuckersynthese.

3. Die nachweisbare Spaltung von Glucose in Formaldehyd und Pentose tritt in wässerigen Lösungen, deren Alkalescenz etwa der des Blutes entspricht, ein.

4. Sie tritt auch in sauren Lösungen ein, wenn durch oxydierende oder reduzierende Agenzien der ursprüngliche Gleichgewichtszustand gestört wird.

5. Wie die Elektrolysen des Glykols und des Glycerins zeigen, tritt auch in sauren Lösungen eine Zuckersynthese aus den durch Spaltung des Zuckers entstehenden Aldehyden ein.

---

[1]) Diese Zeitschr. 17, 132, 343, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 22, 103, 1909.

[3]) Vgl. von Lippmann, Chemie d. Zuckerarten, 3. Aufl., 1904, S. 835.

[4]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 21, 988, 1888; 22, 359, 1889. — Loew, ibid. 21, 271, 1888; 22, 478, 1889. — Neuberg, ibid. 35, 2632, 1902. — Euler, ibid. 39, 45, 1906.

[5]) Selbstverständlich konnte auf die Konfiguration und optische Aktivität der bei Spaltung und Synthese entstehenden Zucker keine Rücksicht genommen werden. Traubenzucker, eine unter asymmetrischen Bedingungen erzeugte asymmetrische Substanz, schafft auch bei der Spaltung ein asymmetrisches Medium, während bei der künstlichen Zuckersynthese aus Formaldehyd alle asymmetrischen Bedingungen fehlen.

Über die Adsorption von Eiweißstoffen.

Von

Wilhelm Biltz.

Nach Versuchen von

Hans Steiner.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Bergakademie Clausthal i. H.)

(Eingegangen am 22. Oktober 1909.)

Mit 3 Figuren im Text.

Im folgenden beabsichtige ich, zunächst an einigen Beispielen zu zeigen, in welcher Weise die Adsorption des Eiweißes von seiner Konzentration abhängt. Ferner soll geprüft werden, ob die Adsorptionsformel, welche die Konzentrationsbeziehungen bei den reversiblen Adsorptionsvorgängen ausdrückt, die Adsorptionen der toxischen und antitoxischen Eiweißstoffe und verwandte Vorgänge zu berechnen gestattet. Zu dieser Aufgabe wurde ich durch eine Bemerkung veranlaßt, die Arrhenius in seinem Werke „Immunochemie" bei der Kritik der von mir für die Toxin-Antitoxinreaktionen vertretenen Adsorptionstheorie macht.[1]) Arrhenius sprach sein Befremden darüber aus, daß

[1]) In meiner Zusatzhypothese, das adsorbierte Toxin zerfalle sekundär ähnlich wie Wasserstoffsuperoxyd an Platin (vgl. W. Biltz, H. Much und C. Siebert. v. Behrings Beiträge 10), erblicken Gengou und Jacqué und Zunz (Arch. intern. de Physiologie 7, Heft 1 u. 2 und Bull. Soc. Roy. d. Sciences méd. et nat. 1908, Nr. 10) merkwürdigerweise einen Einspruch meinerseits gegen meine eigene Theorie. Ich kann nicht aus der zitierten Stelle herauslesen, daß damals ein Bedenken gegen den Adsorptionscharakter des ersten Stadiums der Toxinabsättigung geäußert sei; auch habe ich später, als die Zusatzhypothese durch die Morgenrothschen Versuche über die Fortexistenz der Komponenten innerhalb der Verbindung überflüssig geworden war, noch einmal Veranlassung genommen, die Grundlagen der Adsorptionstheorie unzweideutig darzulegen. Vgl. Med.-naturw. Archiv 1, 345, 1907.

ich keine der durchgemessenen Toxinreaktionsbeispiele nach dieser Formel geprüft hätte. Eine solche Rechnung erschien mir jedoch vor dem Erscheinen der „Immunochemie" verfrüht, da erstens eine nähere Kenntnis über die Adsorption von Eiweiß im makroheterogenen System noch fehlte und weil ferner in den mikroheterogenen Systemen der Gifte und Gegengifte es nicht sicher war, welches von beiden als Adsorbendus, welches als Adsorbens anzusehen ist; überdies standen und stehen noch heute nähere Kenntnisse über die Adsorption innerhalb kolloidaler Lösungen aus. Nachdem durch Arrhenius festgestellt und in der „Immunochemie" veröffentlicht war, daß die Antitoxine ein etwa 10 bis 100mal höheres Molekulargewicht haben als die Gifte, war die Frage nach Adsorbens und Adsorbendus zwar nicht gelöst, wohl aber kann man wenigstens den Versuch der Rechnung machen, indem man die größeren Partikel des Antitoxins als Adsorbens setzt und zum Vergleiche die Adsorption von Eiweiß im makroheterogenen System heranzieht.

I. Adsorption von Eiweiß an Hydrogele und feste Stoffe.
(Makroheterogene Systeme.)

Über die Adsorption gelöster Eiweißstoffe durch die verschiedensten festen Substrate besitzen wir u. a. dank der Versuche von Landsteiner, Michaelis und ihren Mitarbeitern eingehendere qualitative und einige quantitative Erfahrung. Michaelis und Rona[1]) kamen vorzüglich auf Grund des Verhaltens von Albumosen zu dem Ergebnis, daß wohl eine Adsorption vorliegt, daß sie sich aber von dem Schulfall der mit Vorliebe untersuchten „mechanischen" Adsorption typisch unterscheidet. In ihrer Abhängigkeit von der Konzentration der Lösung, auf die es im Zusammenhange mit der Interpretation der immunochemischen Reaktionen vorzugsweise ankommt, ist die Adsorption von Eiweiß bisher noch nicht ausführlicher geprüft worden. Eine Messungsreihe, die von Landsteiner und Uhlirz[2]) an Euglobulin und Kaolin durchgeführt wurde, ist hier als Orientierungsversuch von Wert.

---

[1]) Diese Zeitschr. 15, 196, 1908.
[2]) Centralbl. f. Bakt. 40, 266, 1905.

Die Bestimmung sehr kleiner Eiweißmengen, wie sie bei Adsorptionsversuchen verlangt wird, ist ziemlich diffiziler Art. Herr Dr. Zimmermann, der sich dieser Versuche im hiesigen Laboratorium zuerst annahm, verwandte die in der Abwasseranalyse übliche Titration der organischen Bestandteile mit Permanganat. Es schien bei diesen Versuchsreihen zunächst eine auffällige Verschiedenheit zwischen undialysiertem und salzhaltigem Eiweiß hervorzutreten; das salzhaltige Eiweiß schien in kleiner Konzentration sehr schwach, in höherer stärker und in noch höherer Konzentration wiederum relativ schwächer adsorbiert zu werden, dergestalt, daß eine flach S-förmige Adsorptionskurve herauskam, während das dialysierte Eiweiß jedesmal die normale Abhängigkeit von adsorbierter und freier Eiweißmenge aufwies. Indessen konnte dieser Befund durch die exakteren Messungen nicht weiter belegt werden. Die Permanganatmethode wird, abgesehen von dem empirisch ausgleichbaren Fehler der mangelnden Proportionalität von Permanganat und Eiweiß durch geringe Mengen fremder, aus den Adsorptionsmitteln stammender oder zufällig in die Lösung gelangter organischer Bestandteile unrichtig. Auch ist ihre Empfindlichkeit bei kleinen Eiweißmengen — und auf deren Bestimmung kam es gerade an — nicht ausreichend. Wir arbeiteten infolgedessen mit einem Verfahren, nach welchem der Stickstoffgehalt des Eiweißes nach Kjeldahl in Ammoniak übergeführt und das Ammoniak colorimetrisch gemessen wurde. Hierbei kamen uns Erfahrungen zustatten, die in diesem Laboratorium über die Messung der äußerst kleinen, in Salzlagerstätten vorkommenden Ammoniakmengen gemacht worden waren.[1])

Die zu analysierende Eiweißlösung wurde auf ca. 5 ccm eingeengt, mit 10 ccm konz. Schwefelsäure, welche pro Liter 150 g Phosphorpentoxyd enthielt, und einigen Körnchen Kupfersulfat versetzt und bis zur völligen Aufhellung in üblicher Weise erhitzt. Das Reaktionsprodukt wurde mit 150 ccm Wasser verdünnt, mit 75 ccm 30%iger Natronlauge unterschichtet und nach Zusatz etwas granulierten Zinks der Destillation unterworfen. Die gegen die Laboratoriumsluft durch konzentrierte Schwefelsäure abgesperrte Vorlage enthält 5 ccm $^n/_{10}$-Schwefelsäure. Das Destillat, ca. 90 ccm, oder bei größeren Ammoniakmengen ein aliquoter Teil davon, wurde mit 1 ccm 10%iger Kalilauge und 2 ccm Neßlerschem Reagens versetzt, auf 100 ccm aufgefüllt und in einem Krüßschen Colorimeter

[1]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. 62, 183, 1909.

mit Lummer- und Brodhunschem Prismenpaar mit einer entsprechend zubereiteten Lösung verglichen, die 0,1 oder 0,2 mg NH_3 in Form von NH_4Cl enthielt. Die colorimetrische Genauigkeit betrug 2% der zu messenden Werte. Betreffs der Beschaffenheit des Neßlerschen Reagens, der Laugen und des Wassers sei auf die zitierte Abhandlung verwiesen. Die konzentrierte Schwefelsäure liefert, nach Kjeldahl behandelt, stets selbst etwas Ammoniak. Die nötige Korrektur bestimmte man, um zugleich etwaige andere Ammoniakquellen zu berücksichtigen, in der Weise, daß die gleichen Mengen von Adsorbens unter den Bedingungen der eigentlichen Versuche mit Wasser geschüttelt und die wässerige Flüssigkeit mit Schwefelsäure usw. auf Ammoniak verarbeitet wurde. Diese Korrektur betrug z. B. bei 20 ccm Schwefelsäure und 10 ccm Eisenoxydhydrogel 0,22 mg NH_3, bei Verwendung von 10 ccm Schwefelsäure und 10 ccm Hydrogel 0,11 mg NH_3; bei 20 ccm Schwefelsäure allein 0,17 mg NH_3. Zur Prüfung der Brauchbarkeit der Methode wurden wechselnde Mengen einer und derselben Eiweißlösung analysiert.

Tabelle I.

ccm angew. Eiweißlösung	gef. NH_3 in mg	ber. aus dem Mittel mg
5	0,055	0,05
10	0,11	0,10
20	0,22	0,20
25	0,23	0,25
50	0,54	0,50
100	1,03	1,00
200	1,87	2,00
in 10 ccm im Mittel	0,10	

Der Fehler der Methode beträgt also ca. 10% des Wertes. Als Eiweiß wurde das Mercksche Eieralbumin benutzt; die Lösungen wurden gegen Fäulnis durch Thymol geschützt. Vor der Verwendung wurden sie 12 Stunden geschüttelt, wobei sich ein ganz geringer Niederschlag abschied. Die Filtrate blieben dann bei weiterem Schütteln klar. Salzarmes Eiweiß wurde durch 17tägige Dialyse gegen Thymolwasser, Schütteln der Lösung und Abfiltrieren der reichlich ausgeschiedenen Globuline gewonnen. Die Eiweißkonzentrationen sind im Folgenden stets nach Milligrammen NH_3 gerechnet.

Das Hydrogel des Eisenoxyds war durch Fällen einer oxydierten, heißen Lösung von 500 g Eisenvitriol in $1^1/_2$ l Wasser mit Ammoniak bereitet, 20 Tage durch Dekantieren mit heißem Wasser ausgewaschen und schließlich 4 Stunden mit Wasserdampf behandelt. 10 ccm des Hydrogels entsprachen 0,5804 g Fe_2O_3.

Als weiteres Adsorbens wurde reine Cellulose aus der Zellstofffabrik Waldhof-Mannheim gewählt; 20 g der mit Wasser zu

einem Brei aufgeschlämmten Cellulose entsprachen 2,82 g Trockensubstanz. Als drittes Adsorbens kam Kaolin zur Verwendung.

Bei den Versuchen selbst wurden jedesmal konstante, abgewogene oder abgemessene Mengen der Adsorbentien mit 200 ccm der Eiweißlösung variabeln Gehaltes 6 Stunden geschüttelt. Man ließ dann absetzen, was je nach der Natur des Adsorbens und je nach der Konzentration sehr verschieden lange Zeit dauerte; am schnellsten ging die Klärung bei Cellulose, am schlechtesten bei Kaolin vor sich. Die mehr oder minder gut abgesetzte Lösung wurde durch Filtrieren weiter geklärt und ein entsprechender Teil analysiert. Bei Eisenoxyd wurden die Analysenresultate auf 210, bei Cellulose auf 220, bei Kaolin auf 200 ccm umgerechnet. Besondere Versuche mit Eisenoxyd hatten ergeben, daß die Adsorption nach 1,5 Stunden sicher vollendet ist. Die genauere Verfolgung der Adsorptionsgeschwindigkeit bei Cellulose (Tab. II) zeigte, daß in diesem Falle der Endwert sich noch sehr viel schneller einstellt.

Tabelle II.

20 g Cellulose mit je 200 ccm Eiweißlösung = 21,85 mg NH_3 geschüttelt.

Zeit	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert
10″	13,5	8,3
1′	11,2	10,6
3′	10,7	11,1
10′	10,6	11,2
30′	9,6	12,2
1h	10,2	11,6
2h	9,8	12,0
5h	9,8	12,0

Tabelle III.

Adsorption von dialysiertem Eiweiß durch Eisenoxyd. 200 ccm Eiweißlösung; 10 ccm Hydrogel.

mg NH_3 angew.	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert
4,73	ca. 0,05	4,7
7,09	0,02	7,1
14,2	0,14	14,1
18,9	0,22	18,7
23,6	0,33	23,3
35,4	0,41	35,0
47,3	0,89	46,4
71,2	1,45	69,75
94,6	4,1	90,5

Tabelle IV.

Adsorption von dialysiertem und wieder mit Salz versetztem Eiweiß durch Eisenoxyd.

Auf je 100 g in Lösung befindlichem, aus der NH_3-Best. ermitteltem Eiweiß wurden 6 g NaCl zugefügt.

mg NH_3 angew.	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert
4,73	0	4,7
11,8	0,02	11,8
23,6	0,23	23,4
35,4	0,49	34,9
47,3	0,80	46,5
71,2	1,5	69,7
94,6	2,8	91,8

Tabelle V.

Adsorption von undialysiertem Eiweiß durch Eisenoxyd.

mg NH_3 angew.	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert
9,52	0,03	9,5
14,28	0,05	14,2
23,8	0,12	23,7
35,7	0,22	35,5
47,6	0,35	47,2
71,4	0,63	70,8
95,2	1,4	93,8

Die Versuche III bis V mit je 200 ccm Eiweißlösung und 10 ccm Hydrogel zeigen, daß die Aufnahme von Eiweiß durch Eisenoxyd ein Adsorptionsvorgang ist; die Kurven (Fig. 1) gleichen sonst beobachteten. Der Salzgehalt ist, wie der Vergleich von III und IV anzeigt, nicht von sehr erheblichem Ein-

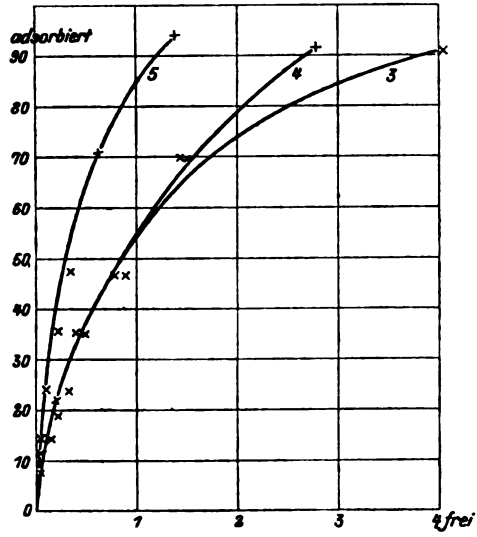


Fig. 1.

fluß. Die stärkere Adsorption bei dem frischen Eiweiß (Versuch V) dürfte sich aus dem Gehalte dieser Lösungen an relativ leicht abscheidbaren Globulinen erklären. Die Versuche lassen sich rechnerisch nur unvollkommen durch die Adsorptionsformel darstellen; in höheren Konzentrationen machen sich Abweichungen geltend, wie sich besonders bei dem folgenden Versuch mit einer kleineren Menge von Adsorbens zeigte.

Tabelle VI.

Adsorption von undialysiertem Eiweiß durch Eisenoxyd.
200 ccm Eiweißlösung; 2,5 ccm Hydrogel.
$\log C_{ads} = \log 16 + 0{,}53 \log C_{frei}$.

mg NH_2 angew.	mg NH_2 frei	mg NH_2 adsorbiert	mg NH_2 adsorbiert ber.
4,76	0,10	4,7	4,7
7,14	0,22	6,9	7,2
9,52	0,41	9,1	10,0
14,28	0,58	13,7	12,0
23,80	1,9	21,9	22,5
35,7	3,8	31,9	32,4
47,6	7,4	40,2	46,2
59,5	13,3	46,2	63,1
71,4	20,0	51,4	78,3
95,2	36,0	59,2	107

Die Adsorption nimmt hier in konzentrierteren Lösungen schneller ab, als die Adsorptionsformel erwarten läßt. Ähnliches findet sich bei der Adsorption von Farbstoffen.[1])

Die Eiweißadsorption ist nur unvollkommen reversibel. Es wurde ein neuer Adsorptionsversuch angestellt und nach Erreichung des Endzustandes die in der Tabelle VIIb in der ersten Spalte verzeichneten Flüssigkeitsmengen abgehoben, analysiert und durch Wasser ersetzt. Nunmehr wurde nochmals ge-

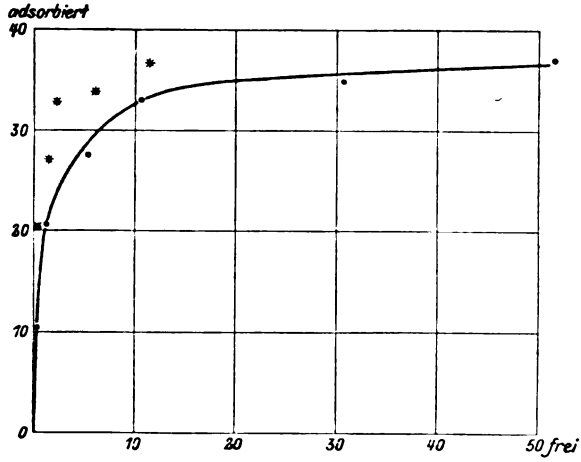


Fig. 2.

schüttelt und wiederum analysiert. Läge ein reversibles Gleichgewicht vor, so müßten die nun erhaltenen Werte sich in die zuerst bestimmte Kurve einordnen, was, wie man sieht — die Versuche sind durch Sternchen bezeichnet; (Fig. 2) —, nicht der Fall ist. Ein Vergleich der Zahlenreihen „Also noch frei vorhanden" und „mg NH_3 nach 6 Std. Schüttelns frei" zeigt ferner, daß vielmehr nur sehr wenig von dem am Eisenoxyd haftenden Eiweiß wieder in Lösung gegangen ist.

Tabelle VII.

a) Adsorption von undialysiertem Eiweiß durch Eisenoxyd. 2,5 ccm Hydrogel.

	mg NH_3 angew.	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert
1.	10,92	0,54	10,4
2.	21,85	1,23	20,6
3.	32,80	5,3	27,5
4.	43,7	10,7	33,0
5.	65,5	30,7	34,8
6.	87,4	51,6	36,8

[1]) Vgl. die Kurventafel Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 38, 2970, 1905.

b) Reversibilitätsversuch.

	Abgehobene Eiweißlösung, durch Wasser ersetzt ccm	Also noch frei vorhanden mg NH_3	Insgesamt vorhanden mg NH_3	mg NH_3 nach 6 Std. Schüttelns frei	Adsorbiert mg NH_3
1.	200	0,03	10,4	0,16	10,2
2.	190	0,12	20,7	0,57	20,2
3.	175	0,89	28,4	1,4	27,0
4.	175	1,8	34,8	2,1	32,7
5.	180	4,9	39,7	6,0	33,7
6.	165	11,1	47,9	11,4	36,5

Die Adsorption von Eiweiß durch Cellulose ist ebenfalls nur unvollständig umkehrbar. Die Rechnung nach der Adsorptionsformel gibt in den hier verwandten Konzentrationen indessen einen leidlich brauchbaren Anschluß an die Versuchsergebnisse.

Tabelle VIII.

Adsorption von undialysiertem Eiweiß durch Cellulose.
200 ccm Eiweißlösung; 20 g Cellulose.
$\log C_{ads} = \log 4{,}26 + 0{,}42 \log C_{frei}$.

mg NH_3 angew.	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert	mg NH_3 adsorbiert ber.
2,18	0,27	1,9	2,5
4,37	0,59	3,8	3,4
10,9	3,0	7,9	6,7
21,85	11,5	10,3	11,9
32,7	17,8	14,9	14,3
43,7	26,4	17,3	16,8

Tabelle IX.

a) Adsorption von undialysiertem Eiweiß[1]) durch Cellulose.
$\log C_{ads} = \log 11{,}1 + 0{,}31 \log C_{frei}$.

	mg NH_3 angew.	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert	mg NH_3 adsorbiert ber.
1.	4,37	0,06	4,3	4,6
2.	8,74	0,58	8,2	9,4
3.	17,48	2,4	15,1	14,6
4.	21,8	3,5	18,3	16,4
5.	26,2	5,4	20,8	18,7
6.	35,0	11,5	23,5	23,7
7.	43,7	16,8	26,9	26,6
8.	52,4	25,1	27,3	30,1

b) Reversibilitätsversuch.

Überall in den Versuchen 2 und 4 bis 8 150 ccm Lösung durch Wasser ersetzt.

	Also noch frei vorhanden mg NH_3	Insgesamt vorhanden mg NH_3	mg NH_3 nach 6 Std. Schüttelns frei	Adsorbiert bleibt mg NH_3
2.	0,18	8,4	0,60	7,8
4.	1,1	19,4	1,4	18,0
5.	1,7	22,5	2,2	20,3
6.	3,7	27,1	4,0	23,1
7.	5,4	32,3	6,2	26,1
8.	8,0	35,3	9,6	25,7

[1]) Dieselbe Lösung, wie in Versuch 8, nur 8 Tage älter.

c) Nochmals je 150 ccm Lösung durch Wasser ersetzt.

2.	0,12	7,9	0,46	7,44
4.	0,36	18,4	0,96	17,4
5.	0,70	21,0	0,89	20,1
6.	1,2	24,3	1,4	22,9
7.	2,0	28,0	2,1	25,9
8.	3,0	28,7	2,9	25,8

Aus der Tabelle IXb und noch besser aus IXc erhellt, daß an frisches, die mit Eiweiß gesättigte Cellulose bespülendes Wasser nur äußerst wenig Eiweiß abgegeben wird.

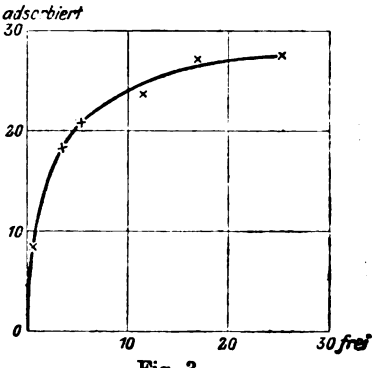


Fig. 3.

Die Versuchsreihe 10 mit Kaolin schließt sich den Reihen mit Eisenoxyd ziemlich nahe an. Auch hier läßt sich die Adsorptionsformel nicht mehr gut anwenden.

Tabelle X.

Adsorption von undialysiertem Eiweiß durch Kaolin.
200 ccm Eiweißlösung; 10 g Kaolin.

mg NH_3 angew.	mg NH_3 frei	mg NH_3 adsorbiert
4,37	0,27	4,1
8,74	0,51	8,2
17,48	1,1	16,4
26,22	2,0	24,2
34,96	3,3	31,7
43,7	4,2	39,5
54,8	7,8	47,0
65,5	9,1	56,4
87,4	18,2	69,2

Die Aufnahme von Eiweiß durch die benutzten Substrate ist demnach ein kontinuierlich in Abhängigkeit von der Konzentration der Lösung verlaufender Adsorptionsvorgang, der sich indessen, wie viele Färbevorgänge durch seine unvollkommene Reversibilität von der „mechanischen" Adsorption unterscheidet und auch nicht immer durch die für diesen geltende Adsorptionsformel darstellbar ist.

II. Adsorption von Eiweißstoffen in Lösung (Immunkörperreaktionen).

Wenn man die Ergebnisse der Adsorptionsversuche mit Hydrogelen und festen Substraten für die Immunkörperreaktionen auszuwerten versucht, so muß man sich von vornherein

darüber klar sein, daß hier, ebensowenig wie dort, die Adsorptionsformel überall zur Darstellung der Versuchsergebnisse auszureichen braucht. Um so weniger als, wie bemerkt, die Übertragung der Erfahrungen mit den makroheterogenen Systemen auf jene vorläufig nicht mit völliger Sicherheit zulässig ist, wenn sie auch näherungsweise gestattet sein mag.

Ich betrachte im folgenden als Adsorbentien die Gegengifte, deren Konzentration mit Arrhenius als n bezeichnet wird, als Adsorbenden die Gifte. Die Konzentration der freien Gifte ist T, die der gebundenen $1 - T$. Zur Rechnung werden die von Arrhenius in seiner „Immunochemie" unter T angeführten Daten mit 100 dividiert. Die allgemeine Adsorptionsformel lautet dann:

$$\frac{1-T}{n} = k.T^{\frac{1}{p}} \text{ oder } \log\frac{1-T}{n} = \log k + \frac{1}{p}\log T.$$

Um einen unmittelbaren Vergleich zu haben, sind die berechneten T-Werte wieder mit 100 multipliziert angegeben. Zur Bestimmung der Konstanten wurde, wie üblich, $\log\frac{1-T}{n}$ als Funktion von $\log T$ aufgetragen und $\frac{1}{p}$ graphisch aus dem Neigungswinkel ermittelt, den eine Grade mit der Abszissenachse bildet, welche durch die aus den Beobachtungsdaten gegebene Schar von Punkten gelegt ist.

Im allgemeinen liegen diese Punkte nicht, wie es bei einem idealen Beobachtungsmaterial und strenger Gültigkeit der Formel sein sollte, auf einer Graden; doch macht man sich ein zu ungünstiges Bild von der Brauchbarkeit der Formel, wenn man lediglich aus diesen Abweichungen schließen wollte. So kam es, daß Arrhenius, der diese Prüfung anstellte, den Eindruck erhielt, die von mir vertretene Adsorptionstheorie sei unhaltbar. Wir werden sehen, daß sich die Ergebnisse durchaus anders gestalten, wenn man aus dem Mittelwert von $\frac{1}{p}$ die Konstante k und aus beiden für gegebenes n die Konzentration des freien Giftes T bestimmt. Man verfuhr so, daß mit den Konstanten $\frac{1}{p}$ und k für die beobachteten T die zugehörigen n berechnet und auf der durch diese Wertepaare bestimmten

Kurve für die gegebenen n die T-Werte aufgesucht wurden. Die Ergebnisse folgen hier tabellarisch nach Seitenzahlen der „Immunochemie" geordnet. Neben den Werten von Arrhenius stehen die meinen zum Vergleich. Ein Beispiel meiner Berechnungsweise habe ich bereits früher in dem medizinisch-naturwissenschaftlichen Archiv gegeben.

Tabelle XI.

Toxizität T von Tetanolysin nach Zusatz von n ccm Antilysin.
S. 117.

$$\frac{1-T}{n} = 5{,}19 \cdot T^{0{,}55}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$[1]	$T_{Ads.}$[1]
0,05	82	82	76
0,1	70	66	61
0,15	52	52	48
0,2	36	38	38
0,3	22	23	26
0,4	14,2	13,9	18
0,5	10,1	10,4	13,5
0,7	6,1	6,3	8,0
1,0	4,0	4,0	4,0
1,3	2,7	2,9	3,5
1,6	2,0	2,5	2,0
2,0	1,8	1,9	1,5

Tabelle XII.

Toxizität T von Streptolysin nach Zusatz von n ccm seines Antilysins.
S. 122.

$$\frac{1-T}{n} = 5{,}28 \cdot T^{0{,}32}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,025	88,7	88,2	88
0,05	76,1	76,9	76
0,075	64,8	66,3	65,5
0,1	55,9	56,4	56
0,125	47,5	47,5	47,5
0,15	40,2	39,8	40,5
0,175	34,6	33,4	34,5
0,2	28,3	28,2	29
0,225	23,6	23,6	24,5
0,30	15,0	15,2	14,5
0,338	11,5	13,1	11,3
0,375	8	11,2	9
0,45	< 6	8,6	4,5

Tabelle XIII.

Neutralisation von Tetanolysin durch n ccm 10^{-6} n Cholesterin bei 37°.
S. 123.

$$\frac{1-T}{n} = 0{,}706 \cdot T^{0{,}10}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,5	67,5	66	65,5
0,75	51	49,5	50,5
1	34,5	34	35,5
1,2	27	23	25,5
1,4	15	14	17,0
1,6	8	9	10,0
1,8	5,5	6,2	5,0
2	3,4	4,2	2,5

Tabelle XIV.

Neutralisation von Diphtherietoxin durch Antitoxin.
Februar 1902. S. 131.

$$\frac{1-T}{n} = 2{,}85 \cdot T^{0{,}1}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,05	74,4	87,5	86
0,1	72,8	75,1	71,2
0,15	57,6	62,7	59,5
0,2	49,8	50,6	48
0,25	32,2	38,6	35,5
0,3	28,0	27,3	25
0,35	17,2	17,5	16,5
0,4	11,1	9,9	10
0,45	5,6	6,0	5,3
0,5	1,2	4,1	2,3

[1]) $T_{Mg.}$ bedeutet T nach dem von Arrhenius benutzten Massenwirkungsgesetz berechnet, $T_{Ads.}$ T nach der Adsorptionsformel berechnet.

Tabelle XV.

Neutralisation von Diphtherietoxin durch Antitoxin.
November 1902, S. 131.

$$\frac{1-T}{n} = 2{,}33 \cdot T^{0{,}1}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,06	79,3	86,5	85
0,12	76,0	73,2	72
0,18	64,7	59.9	59,5
0,24	50,9	46,6	47
0,3	39,1	34,0	36
0,36	23,1	22.4	26
0,4	14,8	15,7	20
0,48	8,3	7,0	11
0,54	2,5	4,5	6
0,6	2,6	3,0	2,5

Tabelle XVI.

Neutralisation von Diphtherietoxin durch Antitoxin.
September 1903, S. 131.

$$\frac{1-T}{n} = 2{,}69 \cdot T^{0{,}1}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,1	75,1	75,1	73,5
0,15	62,6	62,7	61
0,2	47,6	50,6	50
0,25	45,8	38,6	39
0,3	25,9	27,3	28,5
0,35	17,3	17,5	20
0,4	9,6	9,9	12,5
0,45	5,3	6,0	7,0
0,5	3,1	4,1	3,7
0,6	1,6	2,6	1,0

Tabelle XVII.

Neutralisation von Ricin durch Antiricin.
S. 133.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}41 \cdot T^{0{,}06}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,1	88	86	86
0,2	73	72	72
0.3	63	58	58,5
0,4	44	44	45,5
0,5	27,3	31.3	34,
0,6	15,9	19,4	22,5
0,7	11,9	11,0	12,8
0,8	7,1	6,4	6

Tabelle XVIII.

Toxizität von Gemischen von Ricinnervengift und Antiricin.
S. 134.

$$\frac{1-T}{n} = 102 \cdot T^{0{,}35},$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,01	25	25,6	31
0,0125	21	22	23
0,015	17	18,6	17
0,02	12	12,2	9,5
0,0225	9	9.5	7,2
0,025	7	7	5,8
0,0275	5	5	4,8
0.03	4	3,5	3,7
0,0325	3	2,7	3,0
0,035	2	1	2,6

Tabelle XIX.

Neutralisation von 0,04 g Saponin mittels n ccm einer 0,1 n-Cholesterinlösung. S. 135.

$$\frac{1-T}{n} = 20{,}9 \cdot T^{0{,}22}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,01	80,4	78,5	80
0,015	70,1	71,5	70
0,02	58,1	62,9	61,5
0,025	52,4	55,6	55
0,03	45,9	48,3	47
0.04	38,7	35,4	33,5
0,05	29,8	24,4	23,5
0,06	19,0	15,7	15,5
0,07	11,1	9,8	10,5
0,08	6,3	6,1	7.2
0,1	3,1	2,8	3,0
0,12	1,5	1,4	1,5
0,14	0,6	0,8	0,7
0,16	0,4	0,5	0,4

Tabelle XX.

Neutralisation von 0,002 g Saponin durch n ccm norm. Ochsenblutserum.
S. 136.

$$\frac{1-T}{n} = 2{,}08 \cdot T^{0{,}4}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,1	80,5	79,4	81
0,15	70,6	71,7	72,5
0,2	62,8	64,5	64,5
0,3	52,1	52,2	52
0,4	44,4	42,5	41,5
0,5	35.3	34,4	33
0,6	28,3	27,9	27
0,8	18,6	18,9	17
1,0	10,7	13,2	11

Tabelle XXI.

Neutralisation von 1 ccm 0,05%igen Crotaloysin mittels n ccm Antivenin.

S. 137.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}99 \cdot T^{0{,}03}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,05	89	91	89,5
0,1	77	81	79
0,15	71	72	70
0,2	64	63	61
0,25	54	53	51
0,3	46	44	41,5
0,35	36	35	33
0,4	24	26	24
0,45	16	16	16
0,5	6,3	7	8
0,55	1,5	0	2

Tabelle XXII.

Neutralisation von 1 ccm 0,1%igen Kobralysin mittels n ccm Antivenin.

S. 138.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}87 \cdot T^{0{,}04},$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,1	84	83	81,5
0,15	71	75	72
0,2	65	66	63
0,25	56	58	55
0,3	44	50	45,5
0,4	33	33	30
0,5	16	16	14,5
0,6	3,3	0	3

Tabelle XXIII.

Neutralisation von 1 ccm Lysin aus Ancistrodon piscivorus.

S. 138.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}28 \cdot T^{0{,}07}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,05	93	94	93,5
0,1	87	88	87,5
0,15	82	82	81,5
0,2	77	76	75
0,25	70	70	68,5
0,3	63	64	62,5
0,4	53	52	51,5
0,5	42	40	40,5
0,6	26	28	30
0,7	17	16	20
0,8	11	4	11,5
1	2	0	2,5

Tabelle XXIV.

Neutralisation von 0,006 g Crotalusgift mittels n ccm Antivenin.

S. 139.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}11 \cdot T^{0{,}345}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,25	75	75	75
0,5	58	54	54,5
0,75	38	43	39,5
1,0	29	31	28
1,25	21	21	20,5
1,5	14	15	14,5
1,75	12	10	10,5
2,0	8	7	7,8
2,25	4	4	5,8

Tabelle XXV.

Neutralisation von 4 ccm Kobralecithidlösung durch n ccm Antivenin.

S. 141.

$$\frac{1-T}{n} = 0{,}447 \cdot T^{0{,}5}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
1	65,7	64,8	65
2	39,2	41,1	42
3	28,1	27,6	28,5
4	21,2	20,0	20,3

Tabelle XXVI.

Neutralisation des Labs durch Immunserum aus Kaninchen.

S. 180.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}49 \cdot T^{0{,}07}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,02	97,4	97,1	97
0,05	92,3	92,6	92
0,1	85,9	85,2	85
0,2	70,4	70,6	71
0,3	54,3	56,0	58
0,4	42,6	41,8	43,5
0,5	30,2	28,2	31
0,6	16,5	16,3	20
0,7	8,2	8,4	11
0,8	4,7	4,7	4
0,9	2,8	3,1	1

Tabelle XXVII.

Neutralisation von Lab durch normales Pferdeserum I.

S. 181.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}92 \cdot T^{0{,}6}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,1	80	80,2	82,5
0,2	64,3	62,1	68,5
0,4	51,7	52,1	50
0,8	33,5	28,4	28
1,0	24,9	22,2	22
1,2	21,0	18,1	18
1,35	16,0	15,8	15,5
1,5	13,5	14,0	13,5
1,7	10,0	12,2	11,5

Tabelle XXVIII.

Neutralisation von Lab durch normales Pferdeserum II.

S. 181.

$$\frac{1-T}{n} = 2{,}77 \cdot T^{0{,}5}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,02	93	96,3	93
0,05	87,3	90,9	87
0,1	71	82,0	75,5
0,2	63,5	65,3	57
0,3	54,5	49,5	45
0,4	34,7	38,3	34,5
0,5	29,4	28,9	28
0,6	22,0	22,2	22
0,8	19,2	14,4	14,5
1,0	9,4	10,3	9,5
1,3	8,7	7,1	7,0
1,7	3,1	5,0	4,5
2,0	2,9	4,0	3,0

Tabelle XXIX.

Neutralisation von Gänsemuskelextrakt durch Hirudin.

S. 184.

$$\frac{1-T}{n} = 1{,}20 \cdot T^{0{,}37}.$$

n	$T_{beob.}$	$T_{Mg.}$	$T_{Ads.}$
0,2	75	82	77
0,4	66,7	64,9	60
0,8	35,7	36,0	35,5
1,6	11,1	11,2	12,5

Die Prüfung des von Arrhenius kritisch gesichteten Materials nach dem exakten Verfahren, wie es die Anwendung einer Formel in sich schließt, bietet, wie man an den häufig großen Abweichungen von Versuch und Rechnung bemerkt, dem Bearbeiter eine ziemlich gemischte Freude. Wenn nicht die Neuheit des Forschungsgebietes es wäre, das der mathematisch-naturwissenschaftlichen Behandlung zu erschließen Arrhenius' großes Ziel war, so dürfte dem Resultat, das so um des Prinzips willen versöhnt, eine minder hohe Bedeutung beigemessen werden. Was nun den Vergleich der Formeln von Arrhenius'

und der meinen anbelangt, so stimmen beide gleich gut, oder gleich schlecht, wie man will. Ich habe, um dies zu sehen, die Differenzen der beobachteten und berechneten Daten verglichen und finde, daß von den 185 Einzelberechnungen 81 besser nach meiner, als nach der Formel von Arrhenius mit den beobachteten Daten stimmen, 92 schlechter und 12 gleich gut. Zu etwa demselben Ergebnis kommt man, wenn man sämtliche Differenzen der beiderseitigen Rechnungsresultate addiert und die Summen vergleicht. Man kann also sagen, daß die Adsorptionsformel nahezu das gleiche leistet wie die Rechnungsart von Arrhenius. Nun ist aber Arrhenius zur Einführung des Massenwirkungsgesetzes gezwungen, für jede der Reaktionen eine Hypothese hinsichtlich der Anzahl der in die Reaktion eingehenden und von der Reaktion gelieferten Moleküle zu machen. Diese Hypothesen klingen keineswegs immer sehr einfach: sollen doch z. B. 2 Moleküle Ricin und 2 Moleküle Antiricin 3 Moleküle ungiftiger Substanz liefern. Wenn man die Wahl zwischen solchen Hypothesen und einer einzigen, empirisch sicher gestellten Formel hat, wobei beide Möglichkeiten gleichwertig konkurrieren können, so dürfte die Entscheidung nicht zweifelhaft sein. Ich möchte nun indessen keineswegs allein in der Fähigkeit der Adsorptionsformel, sich den Versuchsergebnissen einigermaßen anzuschmiegen, einen strengen Beweis für den Adsorptionscharakter der Vorgänge sehen. Bei der Unsicherheit unserer Kenntnisse über Adsorption in Lösung wäre dies verfrüht und wir sahen, daß die Adsorption im makroheterogenen System keineswegs stets der Formel folgt. Auch ohne die formale Übereinstimmung kann ich an dem Adsorptionscharakter der primären Absättigung schon auf Grund der Kurvenbilder, welche die Ehrlichsche Ungleichung zu deuten gestatten, und den zahlreichen Belegen qualitativer Art nicht zweifeln und muß an dem früher vertretenen Standpunkt festhalten.[1])

Will man die Adsorptionsformel hier somit vorläufig noch als eine Interpolationsformel betrachten, wie mich das am ge-

[1]) Vgl. über die Fortentwicklung der Adsorptionstheorie besonders die Arbeiten der Brüsseler Schule, u. a. J. Jacqué und E. Zunz, Recherches sur l'adsorption des toxines, des lysines et de leurs anticorps. Arch. intern. de Physiol. 8, Heft 2, 1909.

ratensten dünkt, so verdient sie auch unter diesem Gesichtspunkte den Vorzug vor dem dem Massenwirkungsgesetze nachgebildeten Ausdrucke. In der Mehrzahl der Fälle verlangt diese, daß man aus den Versuchen die „Äquivalenz" von Gift und Gegengift berechnet und mit Hilfe dieser Zahl die Gegengiftkonzentration in Äquivalenten ausdrückt. Es bedeutet dies die Einführung eines neben dem Exponenten und der Massenwirkungskonstanten dritten empirischen Koeffizienten. Meine Formel begnügt sich mit deren zwei und leistet somit auch als Interpolationsformel mehr.

Die Purinbasen des Knochenmarks.

Vorläufige Mitteilung.

Von

H. Thar.

(Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserl. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 25. Oktober 1909.)

Das rote Knochenmark wird von vielen als Bildungsstelle des Fibrinogens angesehen und erregt in der letzten Zeit das Interesse verschiedener Forscher. In den vielen von uns untersuchten Knochen wurde ein wesentlicher Unterschied zwischen dem Mark gut und schwach ernährter Tiere festgestellt. Der Gehalt an Fett und Wasser variierte sehr stark, indem bei guter Nahrung ein hoher Fett- und geringer Wassergehalt, bei schwacher das Gegenteil gefunden wurde. Von der in verschiedenen Richtungen angestellten Untersuchung berichten wir hier kurz über die Purinbasen des roten Pferdeknochenmarks.

1000 g des vollständig frischen, in einem Porzellanmörser bis zu homogener Masse verriebenen Pferdeknochenmarks wurden mit der 10fachen Menge Wasser, dem für 1 l je 10 ccm konz. Schwefelsäure zugesetzt wurden, im Ölbade am Rückflußkühler bei 105° 12 Stunden gekocht, nach dem Erkalten filtriert, das Filter mit dem Rückstand dreimal ausgekocht, die Filtrate vereinigt und die Purinbasenfällung nach der Methode von Krüger und Schittenhelm[1]) ausgeführt. Das nach der Kupferfällung erhaltene Filtrat war vollständig farblos, gab keine Biuretreaktion und lieferte in ammoniakalischer Lösung einen vollständig weißen Purinsilberniederschlag, in dem die Trennung

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 35.

der einzelnen Basen nach der in Hoppe-Seylers Handbuch beschriebene Methode (8. Aufl., S. 768) geschah. Das Guanin, welches schwach gelb war, wurde bei 100° getrocknet und gewogen, dann in eine schwach alkalische, sehr verdünnte, warme Lösung übergeführt und durch Zusatz von ungefähr $^1/_3$ Volumen Alkohol und überschüssiger Essigsäure ausgeschieden. Es bildeten sich ziemlich große, makroskopische Drusen, die nach wiederholter Lösung und Ausscheidung vollständig farblos waren.

Das Adenin wurde als Pikrat gefällt und dessen Zersetzungspunkt (281°) bestimmt; es war folglich rein und konnte nach der Formel berechnet werden. Das Hypoxanthin wurde als Hypoxanthinsilberpikrat gefällt und daraus berechnet.

Das Xanthin wurde in einem bestimmten Volumen der Xanthinlösung durch ammoniakalische Silberlösung gefällt und aus dem nach Kjeldahl bestimmten Stickstoff berechnet. Im anderen Teil der Xanthinlösung wurde dasselbe auch durch Silber gefällt, durch Zusatz von HCl im Wasserbade frei gemacht und nach dem Eindampfen aus einer warmen, sehr verdünnten, schwach alkalischen Lösung durch überschüssige Essigsäure ausgeschieden. Die makroskopischen Drusen waren nach wiederholtem Lösen und Ausscheiden vollständig farblos. Alle Reaktionen mit diesen vier Basen fielen positiv aus. Die Mengen der aus 1000 g Mark erhaltenen Purine waren:

Guanin . .	0,3125 g	Hypoxanthin . .	0,0724 g
Adenin . .	0,1710 g	Xanthin . . .	0,02875 g.

Neue Reaktionen des Schwefelharnstoffes.

Von

T. Sato aus Tokio.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 26. Oktober 1909.)

Die wässerige Lösung des Schwefelharnstoffs (Kahlbaumsches Präparat) 1:100 zeigt folgende Reaktionen:

1. Setzt man zu 5 bis 10 ccm der Lösung etwas Essigsäure und 5 bis 6 Tropfen Ferrocyankaliumlösung, so wird die anfangs gelbe Flüssigkeit bald grün, und allmählich tritt eine ziemlich intensive Blaufärbung ein, welche bleibend ist.

2. Nimmt man bei obigem Verfahren statt der Essigsäure Salzsäure, so tritt die blaß grünlichblaue Färbung sofort ein, um später der Blaufärbung Platz zu machen. Läßt man die Lösung bis zum nächsten Tage stehen, so verschwindet die Blaufärbung, kehrt aber sofort wieder, wenn man der Lösung aufs neue 5 bis 6 Tropfen Ferrocyankaliumlösung hinzufügt.

3. Dieselbe Reaktion ist auch nach dem einfachen Zusatz der Ferrocyankaliumlösung ohne Säure zu beobachten. Die Färbung ist aber im allgemeinen weniger intensiv, klingt ebenfalls nach langem Stehen ab, verschwindet jedoch nicht vollständig. Neuer Zusatz der Ferrocyankaliumlösung ruft auch hier die blaue Farbe zurück.

4. Setzt man zu der Schwefelharnstofflösung Natriumcarbonat und Ferrocyankaliumlösung, so verliert die anfangs gelbe Flüssigkeit langsam ihre Farbe. An ihrer Stelle tritt allmählich eine rosarote bis violette Färbung auf, die allmählich wieder verschwindet. Damit ist aber die Reihe der Erscheinungen noch nicht erschöpft, denn jetzt macht sich ein deutliches Opalisieren der Lösung bemerkbar. Wenn man nun der entfärbten Flüssig-

keit wieder etwas Ferrocyankaliumlösung hinzufügt, so färbt sie sich bald blaurot und dann violett. Auch diese Färbung ist flüchtiger Natur.

Diese Reaktion ist äußerst empfindlich und schön. Allerdings verspätet sich das Auftreten der rosaroten Färbung bei den schwächeren Lösungen. Sie ist aber immerhin noch deutlich bei einer Konzentration der Schwefelharnstofflösung von 1:10000 bis 1:20000, nur dauert in diesem Falle die Entwicklung der Färbung stundenlang.

Die Essigsäure-Ferrocyankaliumprobe tritt auch im Urin von Kaninchen ein, welche vorher subcutan 0,5 g Schwefelharnstoff erhalten haben. Setzt man zu 8 bis 10 ccm Urin etwas mehr Essigsäure hinzu, als nur zur Ansäuerung nötig ist und darauf 5 bis 6 Tropfen Ferrocyankaliumlösung, so tritt allmählich eine deutliche Blaufärbung ein.

Daß diese Reaktion nicht von dem etwaigen Eisengehalt des Schwefelharnstoffes abhängt, ist schon aus dem Verlauf der Reaktion zu ersehen: Die Blaufärbung mit Salzsäure und Ferrocyankalium ist vorübergehend, was bei der Eisenreaktion nicht der Fall ist. Auch andere Eisenreaktionen, z. B. die Rhodankaliumprobe, fielen bei der Schwefelharnstofflösung negativ aus.

In den Kontrollreaktionen, die mit einer wässerigen Harnstofflösung angestellt wurden, trat keine der erwähnten Reaktionen auch nur andeutungsweise auf.

Über krystallinisches Chitosansulfat.

Von

Emil Löwy.

(Ausgeführt unter der Leitung des a. ö. Professors Dr. O. v. Fürth im physiologischen Institut der Wiener Universität.)

(Eingegangen am 26. Oktober 1909.)

I. Einleitung.

Seitdem Ledderhose[1]) in Wöhlers Laboratorium das Auftreten von Glucosamin bei der hydrolytischen Spaltung des Chitins mit konzentrierter Salzsäure entdeckt und eine alte Beobachtung von C. Schmidt[2]), betreffend die Beteiligung der Essigsäure am Aufbaue des Chitins, bestätigt hatte, haben die Vorstellungen über die Konstitution dieser merkwürdigen tierischen Gerüstsubstanz mannigfache Wandlungen erfahren.

Sundwik[3]) hielt die Meinung Ledderhoses, derzufolge die Essigsäure aus dem Chitin durch eine einfache hydrolytische Spaltung entstehen sollte, für unzutreffend und wollte die Essigsäure als ein sekundäres und unwesentliches Spaltungsprodukt aufgefaßt wissen. Der Abbau des Chitins, dem er die Formel $C_{60}H_{100}N_8O_{38}$ zuschrieb, sollte sich nach der Gleichung

$$C_{60}H_{100}N_8O_{38} + 14\,H_2O = 8\,C_6H_{13}NO_5 + 2\,C_6H_{12}O_6$$

vollziehen.

Demgegenüber stellte Araki[4]) im Laboratorium Hoppe-Seylers fest, daß die Umwandlung des schwerlöslichen Chitins in das in ver-

---

[1]) Ledderhose, Über salzsaures Glucosamin (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 9, 1200/1, 1876). — Über Chitin und seine Spaltungsprodukte. Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 213 bis 227, 1878.

[2]) C. Schmidt, Zur vergleichenden Physiologie der Wirbellosen. Braunschweig 1845. Annal. d. Chem. u. Pharmakol. 54, 298, 1845.

[3]) E. Sundwik, Zur Konstitution des Chitins. Zeitschr. f. physiol. Chem. 5, 385, 1881.

[4]) Araki, Über das Chitosan. Zeitschr. f. physiol. Chem. 20, 498, 1895.

dünnten Säuren leicht lösliche Chitosan bei der Kalischmelze, ebenso wie auch die hydrolytische Spaltung dieses letzteren sich unter Essigsäurebildung vollzieht. Araki schrieb dem Chitin die Formel $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$ zu und glaubte den Zusammenhang beider durch die Gleichungen

$$C_{18}H_{30}N_2O_{12} + 2H_2O = C_{14}H_{26}N_2O_{10} + 2CH_3.COOH$$
$$C_{14}H_{26}N_2O_{10} + 2H_2O = 2C_6H_{13}NO_5 + CH_3.COOH$$

ausdrücken zu dürfen.

Die Vorstellung, daß acetylierte Glucosaminkomplexe dem Aufbau des Chitins zugrunde liegen, fand in den Untersuchungen von S. Fränkel und A. Kelly[1]) eine wichtige Stütze. Dieselben erhielten bei der Spaltung von Chitin mit 70%iger Schwefelsäure in der Kälte krystallisiertes Monoacetylglukosamin neben einer Substanz, die als Monoacetyldiglucosamin aufgefaßt wurde. Sodann hat Offer[2]) im Laboratorium Fränkels durch Lösen von Chitin in 70%iger Schwefelsäure und Fällen mit Methylalkohol eine amorphe Substanz erhalten, deren elementare Zusammensetzung mit der Formel $(C_{14}H_{26}N_2O_{10})_n$ übereinstimmte, welche jedoch keinen quantitativen Spaltungsversuchen unterzogen worden war.

Fränkel und Offer gelangten zum Schlusse, daß das Chitin als ein polymeres Monoacetyldiglucosamin aufzufassen sei, dessen Analogie mit der Stärke und dem Glykogen sich auch in seiner Jodreaktion kundgibt.

Eine weitere Analogie zu polymeren Kohlenhydraten ergab sich aus den Befunden von v. Fürth und Scholl[3]) über die Bildung von „Nitrochitinen" bei der Einwirkung stärkster rauchender Salpetersäure auf Chitin, wobei es zur Aufnahme von Nitrogruppen im Oxydationsprodukte des Chitins kam.

Während sich die Untersuchungen Arakis auf amorphes Chitosan bezogen haben, ist vor einigen Jahren chlor- und bromwasserstoffsaures Chitosan in Gestalt sehr charakteristischer mikroskopischer Krystalle von v. Fürth und Russo[4]) dargestellt worden.

Die Hoffnung, durch Analyse dieser Salze die elementare Zusammensetzung des Chitosans sicherstellen zu können, war jedoch durch die hochgradige Zersetzlichkeit dieser Verbindungen vereitelt worden. Die Bindung der Salzsäure und der Bromwasserstoffsäure erwies sich nämlich

---

[1]) S. Fränkel und A. Kelly, Beiträge zur Konstitution des Chitins. Sitzungsber. d. Wien. Akad. Mathem.-Naturwiss. Kl. 110, Abt. II, Dez. 1901.

[2]) Th. R. Offer, Über Chitin. Diese Zeitschr. 7, 117, 1907.

[3]) O. v. Fürth und E. Scholl, Über Nitrochitine. Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 188, 1907.

[4]) O. v. Fürth und M. Russo, Über krystallinische Chitosanverbindungen aus Sepienschulpen. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 163, 1906.

als eine so lockere, daß ein Teil derselben bereits beim Trocknen im Vakuum abgegeben wurde und auch das durch Alkalieinwirkung erhaltene freie Chitosan konnte nicht unzersetzt getrocknet werden. Die Analysen schwanken infolgedessen innerhalb ziemlich weiter Grenzen, und zwar schienen dieselben auf einen kleineren Kohlenstoff- und einen größeren Sauerstoffgehalt hinzudeuten, als Arakis Formel entsprach.

Herr Prof. v. Fürth hat mich nun aufgefordert, den Versuch zu machen, ob es nicht gelinge, die flüchtigen Halogenwasserstoffsäuren durch eine nicht flüchtige Mineralsäure, etwa durch die Schwefelsäure zu ersetzen und so ein stabiles, unzersetzliches, krystallinisches Chitosansalz und damit eine feste Grundlage für die Konstitutionsermittelung des Chitins zu gewinnen.

Dieses Salz sollte sodann als ein geeignetes Material für systematische Abbauversuche dienen, die um so mehr geboten schienen, als einige wenige orientierende Versuche, die mit dem labilen Chlorhydrat ausgeführt und deren Resultate mit denjenigen der anderen Autoren schwer vereinbar waren (dieselben deuteten auf die Relation N : 1 Mol. Essigsäure : $^3/_4$ Mol. Glucosamin), Herrn Prof. v. Fürth nicht als einwandfrei erschienen und eine Wiederholung mit besseren Methoden erheischten.

Insbesondere sollte bei der Glucosaminbestimmung die Fehlingsche Methode durch das neue, sehr genaue Zuckerbestimmungsverfahren von Kumagawa und Suto[1]) und ferner bei der Essigsäurebestimmung die Wasserdampfdestillation durch das Verfahren von Wenzel[2]) ersetzt werden.

Es sei mir nun gestattet, zu einer Mitteilung meiner Versuche überzugehen.

II. Darstellung und Eigenschaften der Chitosansalze.

1. Darstellung des Chitins.

Das Ausgangsmaterial für meine Untersuchungen bildeten Crustaceenpanzer, und zwar die Tegumente von Nephrops norvegicus, die ich dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Prof. Dr. Carl Cori, Direktors der k. k. zoologischen Station in Triest, verdanke.

---

[1]) Kumagawa und Suto, Ein Beitrag zur Zuckertitrierung mit ammoniakalischer Kupferlösung nach Pavy. Salkowski-Festschrift, 1904.

[2]) Wenzel, Monatsh. f. Chem. 18, 659, 1897.

Zur Chitindarstellung ging ich in ähnlicher Weise vor, wie Offer.[1])

Die Krebspanzer wurden mit Wasser gewaschen und von Fleischresten befreit, sodann in kleine Stücke zerschnitten und zur Entkalkung mehrere Tage in verdünnter Salzsäure belassen, die so lange erneuert wurde, als sich noch Aufbrausen zeigte. Die entkalkten Panzer wurden nun wiederholt mit Wasser gewaschen und hierauf 2 mal mit 20%iger Kalilauge ausgekocht, wieder mit Wasser abgespült, sodann mit verdünnter Kaliumpermanganatlösung, Natriumbisulfit und Salzsäure behandelt, wiederholt mit Wasser gewaschen, abgepreßt, getrocknet und so schließlich farblos erhalten.

2. Darstellung des Chitosans.

Bei der Darstellung des Chitosans hielt ich mich an die in der Arbeit von v. Fürth und Russo[2]) gegebenen Vorschriften.

Ich mengte stets ungefähr 40 bis 50 g zerkleinerten Chitins mit der 4fachen Menge pulverisierten Ätzkalis (Kahlbaum) in einer großen Silberschale und erhitzte das Gemenge im Ölbade, bis dieses eine Temperatur von 170 bis 180° erreicht hatte. Unter fortwährendem Umrühren des Reaktionsgemisches wurde das Ölbad $^1/_2$ Stunde bei dieser Temperatur erhalten. Die erkaltete Schmelze wurde wiederholt unter Rückflußkühlung mit 95%igem Alkohol ausgekocht, um das Kali in Lösung zu bringen. Das freie Chitosan, das noch vollkommen die Struktur des Chitins zeigte, wurde abgenutscht, mit Wasser und Alkohol gewaschen und in verdünnter Essigsäure in der Kälte gelöst. Auf eine Entfärbung der braunen, kolloidalen Lösung durch schweflige Säure wurde verzichtet, da die Ausbeute sonst, infolge der relativen Leichtlöslichkeit des schwefligsauren Salzes, weit schlechter ausfiel und weil die Reinheit der später zu beschreibenden Chitosansalze dadurch keine Einbuße erfährt. Die filtrierte, essigsaure Lösung wurde nun mit verdünnter Kalilauge schwach alkalisch gemacht, der gallertartige Niederschlag auf einem gehärteten Filter abfiltriert und gründlich gewaschen.

3. Darstellung der krystallinischen Chitosansalze.

a) Chlor- und Bromhydrat.

Das Chitosan wurde in einem kleinen Volumen heißen Wassers suspendiert und mit verdünnter Salz- bzw. verdünnter

[1]) Offer, l. c.

[2]) l. c.

Bromwasserstoffsäure in Lösung gebracht. Hierauf wurde konzentrierte Salz- bzw. Bromwasserstoffsäure so lange zugesetzt, als noch ein Niederschlag ausfiel und eine Probe sich in der Hitze glatt löste, in der Kälte aber einen voluminösen Niederschlag ausfallen ließ. Es wurde nun aufgekocht und der Kolben mit der Lösung in einem großen, mit einem Deckel versehenen, heißes Wasser enthaltenden Blechgefäße langsam erkalten gelassen. Der ausfallende Niederschlag war stets krystallinisch, und zwar fanden sich sowohl die biskuitartigen, als auch die mit einer Delle versehenen, quadratischen Krystallformen, die v. Fürth und Russo in ihrer Arbeit beschrieben haben.

Es wurde nunmehr 3 bis 4 mal in gleicher Weise umkrystallisiert, d. h. so oft, bis die überstehende Mutterlauge nicht mehr gefärbt erschien. Der Niederschlag wurde auf einem gehärteten Filter gesammelt, mit 95%, sodann mit absolutem Alkohol gewaschen und zur Entfernung der letzten Wasserreste je einen Tag unter absolutem Alkohol und absolutem Äther belassen, hierauf wieder auf einem gehärteten Saugfilter abgenutscht und über Schwefelsäure und Paraffin einige Tage im Vakuum getrocknet.

b) Sulfat und Phosphat.

Die Gesichtspunkte, welche uns zur Darstellung eines schwefelsauren Chitosansalzes leiteten, sind bereits oben erörtert worden, und es gelang in der Tat unschwer, ein solches, das sich ausreichend stabil erwies, herzustellen.

Es wurde zu diesem Behufe Chitosan in einem so gewählten Volumen verdünnter Schwefelsäure gelöst, daß beim Erwärmen vollständige Lösung und beim Erkalten wieder Fällung erfolgte. Die Konzentration der Säure wurde bei Präparat I und II zu 20%, bei III zu 25%, bei IV zu 30% gewählt. Alle Präparate wurden 3 bis 4 mal umkrystallisiert und dem Chlor- bzw. Bromhydrat analog getrocknet. Die Ausbeute an krystallinischem Salz betrug etwa 70% des als Ausgangsmaterial benutzten Chitins.

Die Krystallformen des Sulfats sowie auch eines in ganz analoger Weise erhaltenen Phosphats stimmen vollkommen mit denjenigen des Chlor- bzw. Bromhydrats überein. Das Chlor- ebenso wie das Bromhydrat läßt sich mit größter Leichtig-

keit in das Sulfat überführen, insofern sich aus einer Lösung der erstgenannten Salze auf Zusatz einer Sulfatlösung (z. B. Kupfersulfat oder Natriumsulfat) das schwer lösliche Sulfat krystallinisch abscheidet.

Das reine Sulfat ist in Wasser unlöslich und die Leichtlöslichkeit des frisch bereiteten Chlor- bzw. Bromhydrats ist offenbar durch einen unter Abspaltung freier Säure erfolgenden Dissoziationsvorgang bedingt.

4. Eigenschaften der Chitosansalze.

Das Chitosan ist in Wasser, Alkohol und Äther, in konzentrierter Salzsäure, Bromwasserstoffsäure und mäßig konzentrierter Schwefelsäure in der Kälte unlöslich, in verdünnter Essigsäure und anderen verdünnten Säuren schon in der Kälte leicht löslich.

Konzentrierte Lösungen geben mit den Salzen der alkalischen Erden und der Schwermetalle voluminöse, gallertartige Niederschläge.

Phosphorwolfram-, Phosphormolybdänsäure, Jodquecksilberkalium und Jodwismutkalium fällen auch stark verdünnte Lösungen, während Pikrinsäure, Tannin usw. nur konzentrierte Chitosanlösungen niederschlagen.

Chitosan und deren Salze reduzieren nicht, geben mit Phenylhydrazin keine Additionsprodukte. Von Jodjodkalium werden die Präparate nur bei Anwesenheit von Chlorzink rotviolett, von Brom scharlachrot gefärbt, welche Färbungen aber äußerst leicht beim Erwärmen sowie bei der Behandlung mit Alkohol verloren gehen.

Beim Schütteln mit Benzoyl-, Benzosulfo- und Naphthalinsulfochlorid erhält man körnige, sehr schwer lösliche Additionsprodukte. Von Permanganat wird das Chitosan leicht angegriffen.

Bei langandauerndem Erhitzen mit konzentrierter Salzsäure wird das Chitosan in Glucosamin und Essigsäure gespalten.

Die Chitosansalze zersetzen sich beim Erhitzen ohne zu schmelzen.

III. Analytische Zusammensetzung des Chitosansulfats.

1. Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Präparat I.

1. 0,9800 g Substanz verbrauchten 36,40 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,20% N.
2. 0,8521 g Substanz verbrauchten 33,50 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,50% N.
3. 0,8936 g Substanz verbrauchten 34,84 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,46% N.

Präparat II.

1. 0,4088 g Substanz verbrauchten 15,83 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,43% N.
2. 0,8594 g Substanz verbrauchten 31,99 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,22% N.

Präparat III.

1. 0,7417 g Substanz verbrauchten 28,44 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,37% N.
2. 0,5663 g Substanz verbrauchten 21,56 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,33% N.

Präparat IV.

1. 0,5842 g Substanz verbrauchten 22,37 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,37% N.
2. 0,4813 g Substanz verbrauchten 18,48 ccm einer $^n/_{10}$-Schwefelsäure, entsprechend 5,38% N.

Der mittlere Stickstoffgehalt des Chitosansulfats beträgt daher 5,36%.

2. Elementaranalysen.

Präparat I.

0,1116 g Substanz gaben 0,1315 g Kohlensäure und 0,0555 g Wasser,
entsprechend 32,14% Kohlenstoff
und 5,56% Wasserstoff.

Präparat IV.

0,1856 g Substanz gaben 0,2180 g CO_2
und 0,0881 g H_2O,
entsprechend 32,03% C
und 5,31% H.

Der Mittelwert beträgt demnach
für Kohlenstoff 32,09%,
für Wasserstoff 5,44%.

3. Schwefelsäurebestimmungen.

Die Analysen wurden teils nach Asboth, teils ohne Zerstörung der organischen Substanz direkt gravimetrisch vorgenommen.

Präparat I.

0,3606 g Substanz gaben 0,2468 g Bariumsulfat, entsprechend 9,40% Schwefel.

Präparat II.

1. 0,5964 g Substanz gaben 0,4048 g Bariumsulfat, entsprechend 9,32% Schwefel.

2. 0,6402 g Substanz gaben 0,4357 g Bariumsulfat, entsprechend 9,34% Schwefel.

Präparat III.

0,3149 g Substanz gaben 0,2147 g Bariumsulfat, entsprechend 9,36% Schwefel.

Präparat IV.

0,3275 g Substanz gaben 0,2215 g Bariumsulfat, entsprechend 9,29% Schwefel.

Der Mittelwert beträgt demnach 9,34% Schwefel.

4. Zusammensetzung.

Es ergeben sich sonach für die prozentische Zusammensetzung des Chitosansulfats folgende Mittelwerte:

$$C = 32{,}09\% \qquad N = 5{,}36\%$$
$$H = 5{,}44\% \qquad S = 9{,}34\%$$
$$O = 47{,}77\%,$$

woraus sich, auf den Stickstoff als Einheit berechnet, die Atomrelation

$$N_1 : C_{7,00} : H_{14,14} : S_{0,76} : O_{7,82}$$

und unter der begründeten Annahme, daß aller Schwefel in Form von Schwefelsäurekomplexen vorhanden ist, die Relation

$$N_1 : C_{7,00} : H_{12,62} : O_{4,78} : (H_2SO_4)_{0,76}$$

oder $N_4 : C_{28,00} : H_{50,48} : O_{19,12} : (H_2SO_4)_{3,04}$

ableiten läßt.

Die ermittelte Zusammensetzung steht also der Formel Arakis und derjenigen eines Acetyldiglykosamins $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$ recht nahe.

Die Annahme, daß zwei Acetyldiglucosaminkomplexe unter Austritt eines Wassermoleküls zusammengefügt sind und daß diese Verbindung drei Schwefelsäuremoleküle zu binden vermag, würde den gefundenen Analysenresultaten in einfachster Weise genügen:

$$2C_{14}H_{26}N_2O_{10} + 3H_2SO_4 = C_{28}H_{50}N_4O_{19}(H_2SO_4)_3 + H_2O$$
$$C_{28}H_{50}N_4O_{19}(H_2SO_4)_3 = C_{28}H_{56}N_4S_3O_{31}.$$

Gefunden	Berechnet für $C_{28}H_{56}N_4S_3O_{31}$
%	%
C = 32,09	32,31
H = 5,44	5,38
N = 5,36	5,38
S = 9,34	9,23
O = 47,77	47,70
100,00	100,00

Über quantitative Spaltungsversuche, die tatsächlich einen Aufbau des Chitosans aus acetylierten Glykosaminkomplexen im Sinne obiger Annahme ergeben, soll später berichtet werden.

5. Halogenadditionsvermögen.

In der Erwartung, aus dem Halogenadditionsvermögen des Chitosansulfats vielleicht einen Rückschluß auf sein Molekulargewicht ziehen zu können, wurde sein Additionsvermögen in bezug auf freies Jod und Brom quantitativ bestimmt.

a) Jodaddition.

1. a) 0,3898 g Substanz wurden in einem Meßkolben mit 24,15 ccm einer $^n/_{10}$-Jodlösung versetzt, auf 200 ccm aufgefüllt, 15 Minuten geschüttelt; nach 2 Stunden wurden 50 ccm abgehoben und titriert. Zur Titration wurden 4,82 ccm einer $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung verwendet.

Daraus folgt die Relation

$$N : J = 1 : 0{,}327.$$

b) Der Rest der Lösung wurde wieder 15 Minuten geschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. Die Menge der verwendeten Natriumthiosulfatlösung betrug nun 4,38 ccm

$$N : J = 1 : 0{,}445.$$

c) Ein weiteres 15 Minuten lang dauerndes Schütteln bewirkte nach 12stündigem Stehen eine Abnahme des Verbrauches an $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung um 0,03 ccm.

$$N : J = 1 : 0{,}453.$$

2. a) 0,4981 g Substanz wurden auf gleiche Weise mit 23,75 ccm einer $^n/_{10}$-Jodlösung geschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. 3,67 ccm einer $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung wurden zur Titration verbraucht.

$$N : J = 1 : 0{,}476.$$

b) Titration nach 12 Stunden: 3,65 ccm einer $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung

$$N : J = 1 : 0{,}480.$$

c) Titration nach weiteren 12 Stunden ergab das gleiche Resultat.

β) Bromaddition.

1. a) 0,4976 g wurden analog der Jodtitration mit 25 ccm einer $^n/_{10}$-Bromlösung behandelt, nur wurde stets der Titer dieser Lösung bestimmt. Zu der nach 12 Stunden abpipettierten 50 ccm betragenden Lösung, wurde Jodkali im Überschusse zugesetzt und das freigemachte Jod mit 3,94 ccm einer $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung titriert.

N : Br = 1 : 0,485.

b) Nach 12 Stunden wurden 3,95 ccm der $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung verwendet.

N : Br = 1 : 0,483.

c) Ebenso; die Relation N : Br = 1 : 0,483.

2. a) 0,5231 g Substanz wurden mit 24,52 ccm einer $^n/_{10}$-Bromlösung versetzt. Nach 12 Stunden wurde mit 3,70 ccm einer $^n/_{10}$-Natriumthiosulfatlösung titriert.

N : Br = 1 : 0,486.

b) Nach weiterem Schütteln und 12 Stunden stehen lassen wurde mit 3,60 ccm einer $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung titriert.

N : Br = 1 : 0,506.

c) Verbrauch an Thiosulfatlösung nach 12 Stunden 3,65 ccm.

N : Br = 1 : 0,496.

Aus den mitgeteilten Zahlen geht hervor, daß sich dieselben der Relation N : Halogen = 1 : $^1/_2$ nähern.

Das Chitosan vermag also unter den angegebenen Versuchsbedingungen je zwei Stickstoffatomen oder je einem Monoacetyldiglucosaminkomplex entsprechend je ein Jod- oder Bromatom aufzunehmen.

IV. Hydrolytische Spaltungsversuche.

1. Quantitative Bestimmung des abspaltbaren Glucosamins.

Die hydrolytische Aufspaltung des Chitosansulfates wurde durch Kochen mit konzentrierter Salzsäure unter Zusatz von Zinnchlorür (zur Verhütung der Huminbildung) bewerkstelligt.

Durch Vorversuche wurde festgestellt, daß eine maximale Glucosaminausbeute durch 2stündiges Kochen mit konzentrierter Salzsäure erzielt wurde und daß nach 1, $1^1/_2$, $2^1/_2$ und 3stündigem Kochen geringere Werte resultierten, insofern bei zu kurzer Versuchsdauer die Chitosanaufspaltung eine unvollständige war, bei zu langer Versuchsdauer dagegen das gebildete Glucosamin einer partiellen Zersetzung anheimfiel.

Zur Bestimmung des Glucosamins in der durch Schwefelwasserstoff von Zinn befreiten Zersetzungsflüssigkeit diente das

auf dem Prinzipe der Pavyschen Zuckerbestimmung basierende Verfahren von Kumagava und Suto[1]) in seiner von Kinoshita[2]) angegebenen Modifikation.

Da sich die Angaben der genannten Autoren speziell auf Dextrose beziehen, wurde das Reduktionsvermögen des reinen Glucosaminchlorhydrats sorgfältig geprüft und unter Berücksichtigung seines Molekulargewichtes demjenigen der Dextrose gleichwertig befunden.

Präparat I.

0,4262 g Chitosansulfat wurden mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure unter Zusatz von 1 g Zinnchlorür 2 Stunden lang unter Rückflußkühlung im Glycerinbade erhitzt. Die erhaltene farblose Lösung wurde mit Wasser verdünnt, durch Schwefelwasserstoff vom Zinn befreit, das Filtrat eingeengt und auf 200 ccm aufgefüllt. 7 aliquote Teile derselben wurden gesondert titriert.

Aus dem Mittelwerte ergab sich für die gesamte Menge gespaltenen Chitosansulfats eine Glucosaminausbeute von 0,2883 g, entsprechend 67,65%, woraus sich eine Relation

N: Glucosamin = 1:0,987 ergibt.

Präparat III.

0,1642 g Chitosansulfat gaben analog behandelt 0,1157 g Glucosamin, entsprechend 70,46%.

Relation N: Glucosamin = 1:1,03.

Präparat IV.

0,4704 g Chitosansulfat gaben bei analoger Behandlung 0,3332 g Glucosamin, entsprechend 70,84%.

Relation N: Glucosamin = 1:1,03.

Als Resultat vorstehend mitgeteilter Versuche ergibt sich, daß die Gesamtmenge des im Chitosan enthaltenen Stickstoffs bei in geeigneter Weise vorgenommener hydrolytischer Spaltung in Form von Glucosamin zum Vorschein kommt und, daß dabei neben diesem letzteren keine anderen reduzierenden Kohlenhydrate auftreten.

---

[1]) Kumagava und Suto, l. c.

[2]) T. Kinoshita, Vgl. Untersuchungen einiger Zuckerbestimmungsmethoden, welche auf dem Reduktionsvermögen des Traubenzuckers beruhen. Diese Zeitschr. 9, 208, 1908.

2. Quantitative Bestimmung der abspaltbaren Essigsäure.

Die Bestimmung der bei der hydrolytischen Chitosanaufspaltung auftretenden Essigsäure wurde im wesentlichen nach dem Prinzipe des Verfahrens von Wenzel ausgeführt.

Die zunächst unter genauer Einhaltung der Vorschriften Wenzels ausgeführten Analysen fielen vollständig negativ aus; es mußte ein stärker hydrolysierendes Mittel, als Schwefelsäure (2:1) angewendet werden, da sonst einerseits bald Verkohlung eintrat, andrerseits keine Essigsäure überging, solange die Flüssigkeit klar blieb. Es wurde daher wie bei der Spaltung von Glucosamin vorgegangen, nämlich die Substanz 2 Stunden mit 10 ccm konzentrierter Salzsäure und 1 g Zinnchlorür in einem Kolben unter Rückfluß im Glycerinbade erhitzt, da zu erwarten war, daß während des 2stündigen Erhitzens keine Bildung von flüchtigen Säuren stattfinde und da unter denselben Bedingungen ein Höchstwert an Glucosamin erzielt worden war. Um ein Entweichen vonEssigsäure zu verhüten, wurde das obere Ende des Rückflußkühlers mit 2 mit konzentrierter Kalilauge beschickten Vorlagen verbunden.

Nach Beendigung des Versuches wurde die salzsaure Zersetzungsflüssigkeit unter Verwendung der in den Vorlagen enthaltenen Kalilauge neutralisiert, eingedampft, der Rückstand zur Beseitigung der Hauptmenge anorganischer Salze mit Alkohol wiederholt ausgekocht, die alkoholische Lösung in den Destillationskolben des Wenzelschen Apparates übertragen, der Alkohol abdestilliert, der Rückstand mit Phosphorsäure angesäuert und die Essigsäurebestimmung nach Einschaltung der Vorlagen nunmehr genau nach den Angaben Wenzels durchgeführt.

Präparat I.

0,3739 g Chitosansulfat gaben, entsprechend 6,61 ccm $^n/_{10}$-Kalilauge, 0,0284 g Acetyl = 7,60% Acetyl.

Relation N: Acetyl = 1:0,462.

Präparat III

1,2294 g Chitosansulfat gaben, entsprechend 23,87 ccm $^n/_{10}$-Kalilauge, 0,1027 g Acetyl = 8,35% Acetyl.

Relation N: Acetyl = 1:0,507.

Präparat IV.

1,5720 g Chitosansulfat gaben, entsprechend 30,15 ccm $^n/_{10}$-Kalilauge, 0,1297 g Acetyl = 8,25% Acetyl.

Relation N: Acetyl = 1:0,501.

Es ergibt sich sonach, daß, entsprechend der Auffassung des Chitosans als eines polymeren Monoacetyldiglucosamins, dasselbe bei der hydrolytischen Spaltung je 2 Stickstoffatomen, also je 2 Glucosaminmolekülen entsprechend 1 Molekül Essigsäure liefert.

Die etwas kleinen Glucosaminwerte und zu großen Essigsäurewerte, die v. Fürth und Russo gefunden hatten, dürften durch partielle Zersetzung des Glucosamins bei der Säurehydrolyse sowie bei der äußerst langwierigen Wasserdampfdestillation verursacht gewesen sein.

V. Zusammenfassung.

Es sei mir nunmehr gestattet, die Resultate meiner Analysen und Spaltungsprodukte noch einmal übersichtlich zusammenzustellen:

	Nr. des Präparates	Gefunden: Einzelbestimmung %	Gefunden: Mittel %	Berechnet für $C_{28}H_{50}N_4O_{19}(H_2SO_4)_3$ %	
C	I.	32,14	32,09	32,31	
	IV.	32,03			
H	I.	5,56	5,14	5,38	
	IV.	5,31			
N	I.	5,20	5,36	5,38	
		5,50			
		5,46			
	II.	5,43			
		5,22			
	III.	5,37			
		5,33			
	IV.	5,37			
		5,38			
S	I.	9,40	9,34	9,23	
	II.	9,32			
		9,34			
	III.	9,36			
	IV.	9,29			
O	I.	47,60	47,78	47,70	
	IV.	47,96			
Glucosamin	I.	67,65	69,65	70,89	Spaltung: $C_{28}H_{50}N_4O_{19}(H_2SO_4)_3 + 5H_2O = 4C_6H_{13}NO_5 + 2CH_3 \cdot COOH + 3H_2SO_4$.
	III.	70,46			
	IV.	70,84			
Acetyl	I.	7,60	8,07	8,51	
	III.	8,35			
	IV.	8,25			

Wir gelangen sonach zu folgendem Ergebnisse:

Das Chitosan ist tatsächlich in Übereinstimmung mit den Vorstellungen, zu denen Araki, Fränkel und Kelly sowie Offer gelangt sind, als ein polymeres Monoacetyldiglucosamin anzusehen. Für die Molekulargröße desselben besitzen wir vorläufig keine Anhaltspunkte, da Chitosansulfat nur in verdünnten Säuren, nicht aber in einer der zur Ausführung der Molekulargewichtsbestimmung brauchbaren Flüssigkeiten löslich ist. Doch ergibt sich aus dem Schwefelsäurebindungsvermögen, daß mindestens zwei solcher Komplexe im Chitosan verbunden sein müssen. Die Zusammensetzung des Chitosans entspricht also der Formel

$$(C_{28}H_{50}N_4O_{19})_x .$$

Die hydrolytische Spaltung in Glucosamin und Essigsäure erfolgt glatt nach der Gleichung:

$$(C_{28}H_{50}N_4O_{19})_x + 5x\,H_2O = 4x\,(C_6H_{13}NO_5) + 2x\,(CH_3 \cdot COOH).$$

Der Einfluß der Neutralsalze auf die Indicatoren.

Von

L. Michaelis und P. Rona.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 30. Oktober 1909.)

Bei einer früheren Gelegenheit[1]) hatten wir gezeigt, daß die Farbnuance mancher Indicatoren nicht nur von der H-Ionenkonzentration, sondern in einem merklichen Grade auch von dem Gehalt der Lösung an Neutralsalzen abhängt. Diese Tatsache hat deshalb eine Bedeutung, weil hiermit eine Fehlerquelle bei der von Friedenthal ausgearbeiteten Methode der Bestimmung der Acidität durch Indicatoren gegeben ist. Es handelt sich jetzt darum, diese Tatsache durch weiteres Material zu stützen, ferner abzuschätzen, inwieweit diese Fehlerquelle praktisch für die Bestimmung der H-Ionen in Betracht kommt, und schließlich eine Deutung dieses Befundes zu versuchen.

Unsere Untersuchungen wurden in der Weise durchgeführt, daß eine Reihe von Lösungen mit einem so niederen Salzgehalt aufgestellt wurde, daß ihr Einfluß auf den Indicator vernachlässigt werden konnte, und daß den einzelnen Gliedern dieser Reihe eine verschiedene H-Ionenkonzentration erteilt wurde. In der Mehrzahl der Fälle verwandten wir Mischungen von primärem und sekundärem Natriumphosphat, nach einem zuerst von Szily gemachten Vorschlag, und zwar in denjenigen Fällen, wo es sich um eine nahe um den Neutralitätspunkt herum liegende Reaktion handelte. In anderen Fällen wandten wir nach dem Vorschlag von Fels und von Saleski, welche

[1]) L. Michaelis u. P. Rona, Zeitschr. f. Elektrochem. 14, 251, 1908.

im Nernstschen Institut arbeiteten, Mischungen von Essigsäure mit Natriumacetat oder Mischungen von Ammoniak mit Ammoniumchlorid an. Hatten wir so eine beliebig abgestufte Reihe von H-Ionenkonzentrationen als Testlösungen hergestellt, so wurden diese mit dem betreffenden Indicator versetzt, so daß die Skala der Farbnuancen des Indicators bei wechselnder Reaktion direkt dem Auge sichtbar als Vergleichsobjekt dastand. Nun wurde eine H-Ionenkonzentration gewählt, welche für den betreffenden Indicator im Bereich seines Farbenumschlags lag, und diese Lösung wurde in verschiedenen Proben mit steigenden Mengen eines Neutralsalzes versetzt, wobei jedoch das Gesamtvolumen der Flüssigkeit stets das gleiche (50 ccm) blieb. Dann wurde verglichen, in welcher Weise die Nuance des Indicators sich durch den Salzzusatz änderte. Natürlich wurden die Lösungen so hergestellt, daß sie stets die gleiche Menge des Indicators enthielten und sich sonst durch nichts als den Gehalt an Salzen unterschieden. Es ergab sich nun folgendes:

1. Lackmus. (Tieman-Kübel.) 4 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

Ein Phosphatgemisch von $1{,}3 \cdot 10^{-7}$ H-Ionengehalt wird mit steigenden Mengen reinstem KCl versetzt. Schon bei 0,08 n-KCl bekommt die violette Farbe einen Stich ins Blaue; bei Zusatz von 0,16, 0,32, 0,64 und 1,28 n-KCl wird die Farbe deutlich blauer, entsprechend einem H-Ionengehalt von ca. $2{,}9 \cdot 10^{-8}$. Die rote Farbe eines Phosphatgemisches von $2{,}4 \cdot 10^{-7}$ wurde durch KCl-Zusatz nicht beeinflußt.

2. Alizarinsulfosaures Natrium. ($^1/_4$ % in 50 % Alkohol.) 5 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

Ein Phosphatgemisch von $4{,}1 \cdot 10^{-6}$ H-Ionengehalt wird mit steigenden Mengen reinstem KCl versetzt. Bei Zusatz von 0,64, 1,28 und 2,36 n-KCl wird die Färbung etwas röter, bis etwa $7{,}2 \cdot 10^{-7}$ H-Ionengehalt entsprechend. Ähnlich wie KCl wirkt auch $BaCl_2$.

3. Rosolsäure. ($^1/_4$ %ige Lösung in 50 % Alkohol.) 5 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

Ein Phosphatgemisch von $1{,}0 \cdot 10^{-7}$ H-Ionengehalt wurde mit steigenden Mengen reinstem KCl versetzt. Bei Zusatz von 0,32, 0,64, 1,28 n-KCl wird die Färbung deutlich gelber, einem H-Ionengehalt von ca. $2{,}4 \cdot 10^{-7}$ bis $1{,}3 \cdot 10^{-7}$ entsprechend. Die Farbe eines Phosphatgemisches mit $2{,}4 \cdot 10^{-7}$ H· wurde durch den Salzzusatz nicht beeinflußt.

4. Neutralrot. ($^1/_4$ % in 50 % Alkohol.) 2 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

Ein Phosphatgemisch von $2{,}9 \cdot 10^{-8}$ H-Ionengehalt wurde mit steigenden Mengen reinstem KCl versetzt. Zusatz von 0,16, 0,32, 0,64, 1,28 n-KCl bewirkt eine zunehmende Rötung der Färbung etwa $1.3 \cdot 10^{-7}$ H-

Ionengehalt entsprechend. Ein Phosphatgemisch mit $1{,}9 \cdot 10^{-8}$ H-Ionengehalt zeigt schon bei Zusatz von 0,08 n-KCl eine deutlich rötliche Farbe.

5. Methylorange. ($^1/_4$%ige wässerige Lösung.) 1 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

Ein Phosphatgemisch von $1{,}9 \cdot 10^{-5}$ H-Ionengehalt wurde mit reinstem KCl versetzt. Bei Zusatz von 0,16 und 0,32 n-KCl zeigte sich keine Änderung der Farbe; bei Zusatz von 0,64 und 1,28 n-KCl wird die Farbe röter. Eine ähnliche geringe Verschiebung nach Rot findet man auch, wenn man von einem Phosphatgemisch mit $3{,}9 \cdot 10^{-7}$ H-Ionengehalt ausgeht.

6. Phenolphthalein. (1%ige alkoholische Lösung.) 5 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

Ein Phosphatgemisch mit $4{,}7 \cdot 10^{-9}$ H-Ionengehalt (deutlich rosa) wurde bei Zusatz von 0,08 n-KCl fast farblos, bei Zusatz von 0,16, 0,24, 0,32, 0,48 n-KCl schwach rosa (schwächer als einem $4{,}7 \cdot 10^{-9}$ H-Ionengehalt entspricht), bei Zusatz von 0,64 n-KCl schwach rosa, entsprechend $4{,}7 \cdot 10^{-9}$ H-Ionengehalt, bei Zusatz von 1,28 n-KCl ist die Farbe deutlich rot, etwa $6{,}3 \cdot 10^{-10}$ H entsprechend.

7. Trinitrobenzol. ($^1/_4$%ige absolut alkoholische Lösung.) 5 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

$^1/_{20}$ n-NaOH wird mit 0,32, 0,64 und 1,28 n-KCl versetzt. Die Farbe schlägt nach Blaßgelb-orange um, einem NaOH-Gehalt zwischen $^1/_{20}$ bis $^1/_{10}$ n entsprechend.

8. Paranitrophenol.

Ein Phosphatgemisch mit $1{,}3 \cdot 10^{-7}$ H-Ionengehalt ändert bei Zusatz von 0,32 n-KCl nicht seine Farbe. Bei Zusatz von 0,64 n-KCl wird die Farbe heller, bei Zusatz von 1,28 fast einem H-Ionengehalt von $7{,}2 \cdot 10^{-7}$ entsprechend.

9. Methylviolett. ($^1/_4$%ige wässerige Lösung.) 3 Tropfen in 50 ccm Flüssigkeit.

Eine $^1/_2$ n-HCl wird durch Zusatz von 0,32 und 0,64 n-KCl etwas heller mit einem Stich ins Gelbe. Bei Zusatz von 1,28 n-KCl wird die Farbe gelb, etwa 1 n-HCl entsprechend. Eine $^1/_{10}$ n-HCl wird durch Zusatz von 0,16 n-KCl deutlich grüner; bei Zusatz von 0,32, 0,64, 1,28 n-KCl wird die Farbe nach der sauren Seite bis etwa $^1/_4$ n-HCl entsprechend verschoben.

10. Kongorot. ($^1/_4$%ige Lösung in 50% Alkohol.) 4 Tropfen in 50 ccm Flüssigkeit.

$^1/_{3200}$ n-Essigsäure wird nach Zusatz von 0,16 n-KCl graurot-orangestichig; nach Zusatz von 0,32, 0,64, 1,2 n-KCl wird die Verschiebung nach der alkalischen Seite (nach dem Rot) immer ausgeprägter. Im selben Sinne, aber viel stärker wirkt der Zusatz von $BaCl_2$; Zusatz von nur 0,06 n-$BaCl_2$ wirkt schon so wie der von 1,2 n-KCl.

11. Nilblau. ($^1/_4$%ige wässerige Lösung.) 2 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

$^1/_{1000}$ n-NaOH (dunkelviolett, mit rotem Stich); nach Zusatz von 0,16, 0,32, 0,64 n-KCl wird die Farbe ein wenig nach der saueren Seite hin (nach Blau) verschoben. Ebenso wirkt der Zusatz von 0,12, 0,24, 0,48 n-$BaCl_2$.

12. Tropäolin. ($^1/_4$%ige Lösung in 50% Alkohol.) 2 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

$^1/_{200}$ n-HCl; die Farbe wird nach Zusatz von KCl nach der sauren Seite hin verschoben, und zwar entspricht die scheinbare Verschiebung der Reaktion bei Zusatz von 0,72 n-KCl etwa $^1/_{170}$ n-HCl, von 0,80 n-KCl etwa $^1/_{120}$ n-HCl, von 1,60 n-KCl $^1/_{90}$ n-HCl. Geht man von einer $^1/_{100}$ n-HCl aus, so entspricht die scheinbare Verschiebung bei Zusatz von 0,64 n-KCl etwa $^1/_{85}$ n-HCl, von 0,72 n-KCl etwa $^1/_{75}$ n-HCl, von 1,60 n-KCl etwa $^1/_{50}$ n-HCl.

13. Safranin. ($^1/_4$%ige Lösung in 50% Alkohol.) 1 Tropfen auf 50 ccm Flüssigkeit.

In HCl ändert sich die Farbe bei Zusatz von 0,32 n-KCl noch nicht. Bei Zusatz von 0,64 n-KCl wird die Farbe etwas violetter, von 1,28 n violett (noch nicht ganz 2 n-HCl entsprechend), von 2,86 n blauer als es 2 n-HCl entspricht.

Die H-Ionenkonzentration der Phosphatlösungen wurde stets durch H_2-Konzentrationsketten bestimmt. Es wurde eine Stammlösung von Phosphorsäure mit wechselnden Mengen NaOH versetzt und die einzelnen Mischungen der Messung unterworfen. Die schließlich angewandten Lösungen enthielten bei wechselndem Na-Gehalt stets $^1/_{200}$ g Mol. Phosphorsäure. In Anbetracht der ausführlichen Mitteilungen von Sörensen über diesen Gegenstand[1]) wollen wir darauf nicht weiter eingehen, möchten nur hervorheben, daß unsere Untersuchungen vor Erscheinen der Arbeit von Sörensen bereits abgeschlossen waren. Wir haben übrigens bei weiteren Arbeiten den obigen Weg verlassen und stellen die Lösungen einfacher durch Mischung von reinem primärem und sekundärem Natriumphosphat her.

Zur Bestätigung dieser Versuche wählten wir noch einen anderen Weg. Man kann nämlich noch auf einfachere Weise den Salzgehalt einer Flüssigkeit ändern, indem man die H-Ionenkonzentration konstant läßt. Wenn man eine schwache Säure mit ihrem Natriumsalz mischt oder eine schwache Base mit ihrem Chlorid, so ist die H-Ionenkonzentration der Lösung nur von dem Verhältnis der beiden Elektrolyte abhängig.[2]) Dies mag an dem Beispiel Essigsäure—Natriumacetat erläutert werden. Es befinden sich in Lösung x Mole Essigsäure und y Mole Natriumacetat.

[1]) Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

[2]) Vgl. B. Fels, Studien über die Indicatoren der Acidimetrie und Alkalimetrie. II. Zeitschr. f. Elektrochem. 10, 208, 1904.

Ist die Lösung nicht zu konzentriert, so können wir ohne wesentlichen Fehler das Natriumacetat als vollkommen dissoziiert annehmen, wogegen die Dissoziation der Essigsäure unter allen Umständen, besonders aber bei Gegenwart von Natriumacetat, sehr geringfügig ist. Daher ist die Konzentration der Acetationen fast genau gleich der des zugefügten Natriumacetats und die Konzentration der undossiciierten Essigsäure fast genau gleich der gesamten zugefügten Essigsäure. Es besteht nun nach dem Massenwirkungsgesetz die Beziehung:

$$[H^{\cdot}] \cdot [CH_3COO'] = k\,[CH_3COOH].$$

Setzen wir die entsprechenden Werte ein, so ist

$$[H^{\cdot}]\,y = kx$$

$$\text{oder } [H^{\cdot}] = k \cdot \frac{x}{y},$$

d. h. $[H^{\cdot}]$ hängt nur von dem Verhältnis von Essigsäure zu Natriumacetat ab. Es müßte daher, wenn die Salzkonzentration keinen Einfluß auf die Farbe des Indicators hätte, ein Indicator in einem Gemisch von Essigsäure und Natriumacetat in weiten Grenzen unabhängig von der absoluten Konzentration dieser Stoffe sein. Stellt man nun ein solches Gemisch her, welches für einen geeigneten Indicator im Bereich der Übergangsfarbe liegt, so hat der Indicator bei verschiedener Salzkonzentration eine wechselnde Nuance, und zwar, wie wir der Kürze halber zusammenfassen wollen, stets in gleichem Sinne, wie es die obigen Versuche lehrten. Das besonders Beweisende für die Richtigkeit der Behauptung, daß der Salzgehalt und nicht die H-Ionenkonzentration die Farbennuance beeinflußt, liegt darin, daß verschiedene Indicatoren durch gleiche Bedingungsänderungen in entgegengesetztem Sinne beeinflußt werden könnten; so zeigt Lackmus eine salzreiche Lösung scheinbar zu alkalisch, Neutralrot scheinbar zu sauer an. Berliner Leitungswasser reagiert auf Lackmus sauer; löst man NaCl darin auf, so wird es blauer; auf Neutralrot reagiert Leitungswasser ein wenig alkalisch; nach Zusatz von NaCl wird es röter, also scheinbar saurer. Je nach dem angewandten Indicator wird also Leitungswasser durch Salzzusatz scheinbar saurer oder alkalischer. Methylviolett wird nach Salzzusatz scheinbar nach der sauren, Kongorot nach der alkalischen, Tropäolin, Methylorange, Alizarin-

rot nach der sauren, Rosolsäure, Trinitrobenzol nach der alkalischen, Phenolphthalein, Paranitrophenol nach der sauren Seite verschoben.

Wenn wir nun fragen, welche Fehlerquelle für die Messung der H-Ionenkonzentration hierdurch geschaffen wird, so ist dies für die meisten Indicatoren im Bereich der physiologisch vorkommenden Salzkonzentration, also etwa $^1/_8$ n-Lösungen, sehr unbedeutend, so daß sie für praktische Zwecke fast vernachlässigt werden kann. Bedeutsam ist die Verschiebung nur beim Methylviolett[1]) und sehr merklich auch beim Kongorot und beim Neutralrot. Diese beiden Indicatoren, welche sonst vorzüglich sind, wird man bei einigermaßen salzreichen Lösungen daher besser vermeiden.

Wenn wir uns nun nach der Ursache dieser Erscheinung fragen, so glauben wir, daß sie komplexer Natur ist. Für das Kongorot fanden wir schon früher (l. c.) eine Erklärung. Die Salze wirken auf Kongorot stark ausflockend, und als Vorstufe der Ausflockung finden wir hier eine Veränderung der Farbe, ähnlich wie bei der Ausflockung des kolloiden Goldes. Dafür spricht besonders auch die Tatsache, daß gerade beim Kongorot (und nur bei diesem) die mehrwertigen Metallionen einen so bedeutenden Einfluß auf die Nuance selbst in den niedersten Konzentrationen haben, und daß man nach genügend langer Zeit in der Tat eine Ausflockung beobachten kann. Aber für die anderen angewendeten Indicatoren trifft das nicht zu. Die meisten werden durch niedere Salzkonzentrationen überhaupt nicht geflockt, besonders nicht die meisten anderen sauren Indicatoren, und es ist auch kein Unterschied der mehrwertigen Ionen gegen die einwertigen vorhanden. In diesen Fällen glauben wir als Grund für die Farbänderung eine Änderung der Dissoziationskonstante des Indicators in dem veränderten Medium annehmen zu dürfen. Schon Arrhenius und Euler haben z. B. nachgewiesen, daß Essigsäure nach Zusatz von NaCl stärker dissoziiert ist als in reiner Lösung. So mag auch durch die Änderung des Milieu vielleicht infolge der Erhöhung der

[1]) Beim Methylviolett ist noch zu bemerken, daß durch Salzzusatz eine Abblassung des Farbstoffs eintritt, welche nicht auf einer Zerstörung desselben beruht; bringt man die Lösung auf etwa neutrale Reaktion, so tritt das Violett wieder hervor.

Dielektrizitätskonstante desselben durch die Salze, eine Änderung der Dissoziationskonstante des Indicators und damit eine Verschiebung seines Umschlagspunktes herbeigeführt werden.

Auch in den Fällen, in denen die Farbänderung des Indicators durch Salz erheblicher ist, ist an sich die colorimetrische Vergleichsmethode brauchbar, wenn man nur als Vergleichslösung eine Lösung von annähernd gleichem Salzgehalt benutzt. Für physiologische NaCl-Lösung oder andere diesen nahestehenden Lösungen ist die Korrektur, wie gesagt, nur unbedeutend. Dagegen können bei der Reaktionsbestimmung in Seewasser ohne entsprechende Kautelen doch erhebliche Fehler gemacht werden.

Nur als vorläufig wollen wir an dieser Stelle eine zweite Fehlerquelle hervorheben, welche viel schwerwiegender und viel schwerer auszuschalten ist: die Veränderung der Indicatoren bei Gegenwart von Eiweiß. Nicht wesentlich ist diese Fehlerquelle z. B. bei Lackmus, dagegen wird ein so ausgezeichneter Indicator wie alizarinsulfosaures Natrium in Eiweißlösungen ganz unbrauchbar, weil er die Reaktion erheblich zu alkalisch angibt. Wir möchten darauf besonders hinweisen, auch ohne daß wir genaue zahlenmäßige Angaben machen, weil in einigen Arbeiten hierauf keine Rücksicht genommen worden zu sein scheint.

Über Trypsin und Antitrypsin.

Von

Kurt Meyer.

(Aus dem Sero-bakteriologischen Laboratorium des Stadtkrankenhauses in Stettin.)

(Eingegangen am 30. Oktober 1909.)

Mit 1 Figur im Text.

Die seit langem bekannte antitryptische Wirkung des Blutserums hat in letzter Zeit vermehrtes Interesse gewonnen, einmal in klinischer Hinsicht wegen ihrer Steigerung bei gewissen pathologischen Zuständen[1]), sodann wegen der Beziehungen, die sie, wie ich[2]) nachzuweisen gesucht habe, mit dem Eiweißstoffwechsel verbindet. Obgleich nun in neuerer Zeit sich zahlreiche Arbeiten mit diesen Fragen befaßt haben, so besteht doch über die Art und den Mechanismus der Hemmungswirkung des Serums gegenüber der Trypsinverdauung noch keineswegs Klarheit. Nur daß sie auf einen echten Antikörper zu beziehen ist, darf man mit guten Gründen annehmen. Wo aber der Angriffspunkt des Antikörpers zu suchen ist, bedarf noch der Aufklärung.

Meine Untersuchungen wurden begonnen auf Veranlassung v. Bergmanns, der in seiner Arbeit über den Tod bei akuten Pankreaserkrankungen[3]) zuerst auf die allgemeinere Bedeutung der Trypsinimmunität hingewiesen hat. Er hatte mit mir eine genauere Analyse der Antitrypsinwirkung in Angriff genommen, deren Fortführung und Vollendung er mir weiterhin allein überließ.

---

[1]) Brieger und Trebing, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 22, 1041. — v. Bergmann und Kurt Meyer, ebenda 1908, Nr. 37, 1673.

[2]) Kurt Meyer, ebenda 1909, Nr. 23, 1064.

[3]) v. Bergmann, Zeitschr f. experim. Pathol. 3, 401, 1906.

Im Verlaufe der in dieser Richtung unternommenen Untersuchung zeigte sich, daß zunächst über eine andere noch strittige Frage Klarheit gewonnen werden mußte, nämlich über die Entstehung und den Bau des tryptischen Fermentes selbst. Durch Pawlow und seine Schüler wissen wir, daß das inaktive Proferment des Trypsins, das Trypsinogen, durch einen Bestandteil des Darmsekretes, die Enterokinase, in das aktive Ferment übergeführt wird. Während nun Pawlow in dieser Umwandlung einen fermentativen Prozeß erblickte, hat später die Mehrzahl der Forscher angenommen, daß das Trypsin durch das Zusammentreten von Trypsinogen und Enterokinase in bestimmten Mengenverhältnissen entsteht. Besonders französische Autoren haben in diesem Vorgang eine Analogie zu der Komplettierung der Amboceptoren durch die Serumkomplemente gesehen, zumal auch sonstige Ähnlichkeiten, wie die schädigende Wirkung eines Kinaseüberschusses, angegeben wurden. Demgegenüber ist später wieder von Bayliss und Starling[1]) und E. Zunz[2]) betont worden, daß die Aktivierung des Trypsinogens doch ein fermentativer Vorgang ist.

Methodik.

Inaktiver Pankreassaft und Darmsaft waren mir in liebenswürdigster Weise von Prof. E. S. London, Petersburg, überlassen worden. Sie waren im Vakuum eingetrocknet und wurden zum Gebrauch in der 50fachen Menge destillierten Wassers gelöst. Vom Darmsaft stand mir außerdem ein mit Thymol konserviertes flüssiges Präparat zur Verfügung. Der Pankreassaft erwies sich innerhalb der von mir benutzten Versuchsdauer als völlig inaktiv. Der Darmsaft zeigte ebenfalls keinerlei Verdauungswirkung. Für einzelne Versuche wurde ein spontan etwas aktiv gewordener Pankreassaft verwendet, der durch Zusatz von Darmsaft aktiviert wurde. Da nicht bei allen Versuchen die gleichen Präparate benutzt werden konnten, so sind die absoluten Werte der verschiedenen Versuche nicht ohne weiteres unter sich vergleichbar.

Als Serum wurde normales Menschenserum verwandt.

Alle Versuche wurden mit 0,85% Kochsalzlösung auf das gleiche Volumen gebracht.

Zur Bestimmung der Verdauungswirkung bediente ich mich der Groß-Fuldschen Caseinmethode, wegen deren Ausführung ich auf die Arbeit von v. Bergmann und mir verweise. In den Tabellen bedeutet — völlige Verdauung (keine Trübung), ± fast vollständige Verdauung (schwache Trübung), + unvollständige Verdauung (starke Trübung), ++ keine Verdauung (unveränderte Trübung). Die Caseinmethode bietet gegenüber der Mett'schen Methode ganz bedeutende Vorteile, die besonders in der Kürze der Versuchsdauer liegen. Ich glaube, daß mir

[1]) Bayliss und Starling, Journ. of Physiol. 30, 61, 1903.

[2]) E. Zunz, Bullet. d. l'acad. royal. de méd. de Belgique 19, 729, 1905.

die Beantwortung mancher strittiger Fragen nur möglich war, weil die Kürze der eigentlichen Verdauungszeit gestattete, bestimmte Prozesse in ihren einzelnen Stadien wenigstens mit annähernder Sicherheit zu verfolgen.

Die Versuchsdauer betrug, wenn nichts anderes bemerkt, 30 Minuten. Bei längerer Dauer wurde als Antisepticum Thymol zugesetzt. Die Versuche wurden in einem Wasserthermostaten vorgenommen, dessen Temperatur sich zwischen 37 und 38° bewegte.

Bei allen Versuchen wird vorausgesetzt, daß die Verdauungswirkung der Fermentmenge proportional ist, wie es durch die Versuche Volhards und seiner Schüler[1]) erwiesen ist und wie ich selbst[2]) für die hier angewandte Methode gezeigt habe.

Über die Aktivierung des Trypsinogens durch die Enterokinase.

Zunächst wurde festgestellt, durch welche Kinasemengen einer bestimmten Trypsinogenmenge zu stärkster Wirksamkeit aktiviert wird. Die gleiche Menge Trypsinogen wurde mit steigenden Kinasemengen versetzt und die Verdauungswirkung der Gemische sofort nach der Herstellung bestimmt.

Versuch 1.

	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2	0,15	0,1	0,075 ccm
0,1 ccm Trypsinogen									
+ 0,025 ccm Kinase ad 5,0 ccm	±	+	++						
+ 0,05 „ „ „ „ „	—	±	+	+	++				
+ 0,075 „ „ „ „ „		±	±	+	++				
+ 0,1 „ „ „ „ „		—	—	+	++				
+ 0,15 „ „ „ „ „			—	±	+	++			
+ 0,2 „ „ „ „ „				—	±	+	++		
+ 0,3 „ „ „ „ „				—	±	+	++		
+ 0,4 „ „ „ „ „				—	±	+	+	++	
+ 0,5 „ „ „ „ „					—	±	+	++	
+ 0,75 „ „ „ „ „					—	±	+	++	
+ 1,0 „ „ „ „ „						—	±	+	++
+ 1,5 „ „ „ „ „						—	±	+	++
+ 2,0 „ „ „ „ „						—	—	±	+
+ 3,0 „ „ „ „ „						—	—	±	+
+ 4,0 „ „ „ „ „								—	±
+ 5,0 „ „ „ 5,1 „								—	±

[1]) Volhard, Münch. med. Wochenschr. 7, 403, 1907. — Löhlein, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 120, 1905. — Faubel, ebenda 10, 35, 1907.

[2]) Kurt Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1908, Nr. 32.

Der Versuch zeigt, daß mit steigender Kinasemenge eine Zunahme der Wirksamkeit der Gemische stattfindet. Größere Kinasemengen konnten nicht angewandt werden, weil die bei Säurezusatz eintretende Trübung eine genaue Bestimmung des Verdauungsgrades verhindert. Es muß daher unentschieden bleiben, wie weit die Aktivierung des Trypsinogens getrieben werden kann. Die langsame Zunahme der Wirksamkeit bei den großen Kinasemengen deutet aber darauf hin, daß die Wirksamkeitsgrenze in unserem Versuche nahezu erreicht ist. Bemerkenswert ist, daß die Steigerung der Wirksamkeit der zugesetzten Kinasemenge keineswegs proportional, sondern bedeutend langsamer vor sich geht. Die 100fache Kinasemenge bewirkt eine nur 10fach stärkere Aktivierung. Die Ursache dieser Erscheinung soll weiter unten besprochen werden. Ausschließen kann man nach unserem Versuche, daß ein Kinaseüberschuß einen schädlichen Einfluß ausübt.

Weiterhin wurde untersucht, inwiefern die Aktivierung des Trypsinogens von der Zeit abhängig ist, im besonderen welche Beziehungen zwischen Aktivierungszeit und Kinasemenge bestehen. Zu diesem Zwecke wurden Trypsinogenlösungen mit verschiedenen Kinasemengen versetzt und die Gemische bei 37° gehalten. In bestimmten Zeitabständen wurde die Wirksamkeit der Gemische im Verdauungsversuch bestimmt.

Versuch 2.

Gemisch 1 = 0,1 ccm Trypsinogen + 0,01 ccm Kinase ad 5 ccm;
Gemisch 2 = 0,1 ccm Trypsinogen + 0,005 ccm Kinase ad 5 ccm;
Gemisch 3 = 0,1 ccm Trypsinogen + 0,002 ccm Kinase ad 5 ccm;
Gemisch 4 = 0,1 ccm Trypsinogen + 0,001 ccm Kinase ad 5 ccm.

Gemisch 1:	3,0	2,0	1,5	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2 ccm
Nach 1 Std.	—	—	±	+	++				
„ 2 „					—	±	+	++	
„ 3 „						—	±	±	+
„ 4 „							—	±	+
„ 5 „							—	±	+
„ 6 „							—	±	+
„ 24 „						—	±	±	+
„ 30 „					—	±	+	+	
„ 48 „			—	±	+	++			
„ 72 „	—	±	+	++					
„ 96 „	±	+	++						

Gemisch 2:	2,0	1,5	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2 ccm
Nach 1 Std.	+	+	++					
„ 2 „	−	±	±	+	++			
„ 3 „			−	±	±	+		
„ 4 „				−	±	+		
„ 5 „					−	±	+	
„ 6 „						−	±	+
„ 7 „						−	±	+
„ 8 „						−	±	+
„ 9 „								

Gemisch 3:	2,0	1,5	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2 ccm
Nach 1 Std.	++	++						
„ 2 „	±	+	+					
„ 3 „	−	±	±	+				
„ 4 „		−	±	+				
„ 5 „			−	±	+			
„ 6 „				−	+	+		
„ 7 „				−	±	+		
„ 8 „					−	±	+	
„ 9 „					−	±	+	
„ 10 „					−	±	+	

Gemisch 4:	3,0	2,0	1,5	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2 ccm
Nach 1 Std.	++	++	++						
„ 2 „	±	+	+	++					
„ 3 „	±	±	+	+					
„ 4 „	−	±	±	+					
„ 5 „		−	±	+	++				
„ 6 „		−	±	±	+	++			
„ 7 „		−	±	±	+	+			
„ 8 „			−	±	+	+			
„ 9 „			−	±	+	+			
„ 10 „				−	±	+			
„ 24 „					−	±	+		

Wir ersehen aus der Tabelle, daß die Aktivierung um so schneller erfolgt, je mehr Kinase im Gemisch enthalten ist. Im ersten Gemisch ist bereits nach 4 Stunden die maximale Wirksamkeit erreicht, im zweiten erst nach 6 Stunden, im dritten nach 9 Stunden, während im vierten Gemisch die höchste Wirksamkeit zwischen 10 und 24 Stunden erreicht sein muß.

Eine Abhängigkeit der Aktivierungszeit von der Kinasemenge ist hiernach zwar unzweifelhaft, es scheint aber kein direkter Parallelismus zwischen Verkürzung der Aktivierungszeit und Kinasemenge zu bestehen. Ein solcher wird aber sofort erkennbar, wenn wir nicht den Endpunkt der Aktivierung, sondern die Aktivierungsleistung in den einzelnen Gemischen zu einem bestimmten Zeitpunkt ins Auge fassen. So ist die komplett verdauende Menge nach 3 Stunden in den einzelnen Gemischen 0,5, 1,0, 2,0 und wahrscheinlich 4,0 ccm, nach 4 Stunden 0,4, 0,7, 1,5 und 3 ccm. Wie also die Kinasemenge jeweils von Gemisch zu Gemisch um das Doppelte steigt, so steigt in dem gleichen Verhältnis die Verdauungswirkung, also die Aktivierungsleistung. Die Unregelmäßigkeiten, die sich bei der Bestimmung der Aktivierungszeit ergeben, finden ihre Erklärung einmal in der Schwierigkeit, den Endpunkt der Reaktion genau zu bestimmen, sodann darin, daß offenbar bei längerer Dauer der Aktivierung sekundäre Vorgänge eingreifen. Wir sehen nämlich, daß nicht in allen Gemischen die gleiche Wirksamkeit erreicht wird. Während sie in den beiden ersten Gemischen noch gleich ist, nimmt sie im dritten bereits etwas ab und erreicht im vierten nur noch etwa die Hälfte. Auf die Ursachen dieser Erscheinung wollen wir weiter unten zu sprechen kommen.

Aus der ersten Tabelle geht ferner hervor, daß das fertige Trypsin bei 37° eine allmählich fortschreitende Abschwächung erfährt.

Es sei hieran anschließend noch ein Versuch mitgeteilt, in dem festgestellt werden sollte, welche Aktivierungsleistung eine bestimmte Kinasemenge zu vollbringen vermag. Ein Trypsinogen-Kinasegemisch wurde in den Thermostaten gebracht. Nach 1 Stunde wurde es in zwei Teile geteilt. In der einen Portion wurde die Wirksamkeit sogleich sowie nach weiterem 6stündigem Aufenthalt bei 37° bestimmt. Zu der anderen Portion wurde eine der darin enthaltenen Trypsinogenmenge gleiche Menge frischen Trypsinogens gebracht, das frühere Volumen mit Kochsalz wiederhergestellt und das Gemisch von neuem in den Thermostaten gebracht. Für die Aktivierung des frischen Trypsinogens stand also bestenfalls nur die Hälfte der im ersten Versuch wirksamen Kinasemenge zur Verfügung. Nach

1 Stunde Aufenthalt im Thermostaten wurde die gleiche Prozedur wiederholt und so von Stunde zu Stunde verfahren.

Versuch 3.

0,6 ccm Trypsinogen + 0,1 ccm Kinase ad 6,0 ccm (Gemisch a). Nach 1 Stunde (37°) zu 3 ccm 0,3 ccm Trypsinogen, wieder ad 6,0 ccm (Gemisch b). Stündlich wiederholt (Gemische c, d usw.)

Wirksamkeit frisch	1,6	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4 ccm	Wirksamkeit nach 6 Stunden	1,4	1,2	1,0	0,8	0,6	0,4 ccm
Gemisch a			—	—	—	—	+				—	—	—	±
„ b			—	—	—	—	±				—	—	—	±
„ c			—	—	—	±	+				—	—	—	±
„ d			—	—	—	±	+				—	—	+	+
„ e			—	—	±	+	+				—	—	+	+
„ f			—	—	+	+	+				—	—	±	+
„ g			—	±	±	+	+				—	±	+	+
„ h		—	±	+	±	+	+			—	±	+	+	+
„ i	—	±	+	+	±	+	+		—	±	±	±	+	+

Wir sehen noch in Gemisch i, wo die Trypsinogenmenge das 1000fache der Kinasemenge beträgt, eine erhebliche Aktivierungswirkung. In den ersten Gemischen ist die Wirkung des Gemisches unmittelbar nach der Herstellung schon die gleiche wie nach 6stündiger Aufbewahrung. Bei geringerer Kinasemenge wird aber eine Zunahme der Wirksamkeit im Laufe der 6 Stunden deutlich erkennbar. In den höheren Kinaseverdünnungen reicht diese allmähliche Zunahme jedoch nicht aus, um die gleiche Wirksamkeit wie bei den kinasereichen Gemischen zu erreichen. Trotzdem kann von einem der Wirkung parallel gehenden Verschwinden der Kinase nicht die Rede sein. Denn während im Gemisch h die Kinasemenge auf den 128. Teil gesunken ist, ist die Aktivierung des Trypsinogens nur auf die Hälfte vermindert.

Läßt sich aus diesen Versuchen etwas über die Art der Aktivierung schließen, vor allem eine Entscheidung darüber fällen, ob es sich um die Bildung einer Verbindung zwischen Trypsinogen und Kinase oder um eine fermentative Wirkung der Kinase auf das Trypsinogen handelt?

Beginnen wir mit den Tatsachen, die zugunsten der ersten Deutung sprechen. Das wichtigste Moment ist, daß unzweifelhaft eine gewisse Abhängigkeit der Aktivierungsleistung von der

Kinasemenge besteht. In Versuch 1 ist diese Beziehung am auffallendsten; wir sehen mit steigender Kinasemenge eine immer größer werdende Verdauungsleistung erfolgen. Allerdings sehen wir in Versuch 2, daß diese Unterschiede bei genügend langer Versuchsdauer erheblich geringer werden. Immerhin bleibt auch bei beliebig langer Einwirkung der Kinase ein gewisser Unterschied in der Aktivierung zugunsten der kinasereicheren Gemische bestehen. Trotzdem ist sicher, daß die Aktivierung des Trypsinogens nicht durch eine einfache, nach stöchiometrischen Verhältnissen erfolgende Verbindung mit der Kinase bewirkt sein kann. Denn bei einer solchen müßte bis zu einer bestimmten Stufe Proportionalität mit der Kinasemenge bestehen, während ein weiterer Zusatz von Kinase ohne Einfluß sein würde. Die geringe Zunahme der Aktivierung bei starker Vermehrung der Kinasemenge wäre nur verständlich, wenn es sich entweder um eine Adsorptionsverbindung oder um eine stark dissoziierte Verbindung handelt. Eine Adsorptionsverbindung ist wohl wegen des langsamen Verlaufes und wegen der Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Menge der Komponenten auszuschließen. Die Möglichkeit, daß eine weitgehend dissoziierte Verbindung von Trypsinogen und Kinase vorliegt, ist nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen. Doch spricht der langsame Ablauf des Vorganges dagegen, daß es sich überhaupt um eine Verbindung handelt.

Vermag die Vorstellung eines fermentativen Vorganges den Tatsachen besser gerecht zu werden? Das Hauptmerkmal eines Fermentprozesses als eines katalytischen liegt darin, daß das Ferment bei der Reaktion nicht verbraucht wird, daß also bei genügend langer Versuchsdauer die kleinste Fermentmenge beliebig große Leistungen vollbringen kann. Diese theoretische Forderung ist jedoch tatsächlich kaum jemals erfüllt. Man sieht daher einen Vorgang schon als fermentativen an, wenn durch kleine Substanzmengen große Leistungen vollbracht werden und wenn andrerseits gleiche Wirkungen durch kleinere Mengen in entsprechend längerer Zeit hervorgebracht werden. Diese Voraussetzungen sind aber bei der Aktivierung des Trypsinogens durch die Kinase ohne Zweifel erfüllt. Daß die Menge der Kinase im Verlaufe der Aktivierung allmählich abnimmt, wie wir im Versuch 3 gesehen haben, spricht nicht gegen

ihre Fermentnatur. Ist doch bei der Labilität der Fermente eine mehr oder weniger schnelle Zerstörung im Verlaufe der Reaktion die Regel. So werden wir auch in unserem Falle annehmen dürfen, daß bei längerer Versuchsdauer die Kinase allmählich zerstört wird und aus diesem Grunde nicht mehr die volle Aktivierungsleistung zu vollbringen vermag. Außerdem spielt auch die Zerstörung des Trypsinogens eine gewisse Rolle, da in einzelnen langdauernden Aktivierungsversuchen auch durch Zusatz neuer Kinase die Wirksamkeit des Gemisches nicht mehr gesteigert werden konnte.

Auch die Tatsache, daß nach Versuch 2 bei geringen Kinasemengen die Aktivierung der Kinasemenge proportional ist, während in Versuch 1 immer weiterer Kinasezusatz die Wirksamkeit nur noch wenig steigert, läßt sich auf dem Boden der Fermenthypothese erklären. Jener scheinbare Widerspruch wird verständlich, wenn man berücksichtigt, daß die Aktivierung ein allmählich verlaufender Vorgang ist. Bringen wir wie in Versuch 1 gleich nach der Mischung von Trypsinogen und Kinase die Caseinlösung hinzu, so wird im Laufe der Verdauungszeit die wirksame Fermentmenge in dem Maße zunehmen, wie sie aus Kinase und Trypsinogen entsteht. Diese Aktivierung erfolgt um so schneller, je größer die Kinasemenge ist, so daß unter Umständen die volle Aktivierung bereits innerhalb der Verdauungszeit eintritt. Es ist nun von wesentlicher Bedeutung, ob die volle Wirksamkeit des Gemisches bereits innerhalb der Verdauungszeit von 30 Minuten eintritt oder nicht. Eine graphische Darstellung dürfte diese Verhältnisse am deutlichsten machen. Zur Vereinfachung wollen wir hierbei annehmen, daß die Aktivierung zeitlich gleichmäßig vor sich geht und daß das Produkt aus Kinasemenge und Aktivierungszeit konstant ist.

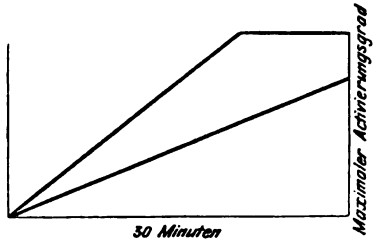


Fig. 1.

Auf der Abzissenachse sei die Zeit, auf der Ordinatenachse die Wirksamkeit des Gemisches eingetragen. Die Wirksamkeit während der Versuchszeit von 30 Minuten wird dann dar-

gestellt durch gerade Linien bei den Gemischen, die die volle Wirksamkeit innerhalb der Versuchszeit nicht erreichen, durch gebrochene Linien bei den Gemischen, deren volle Aktivierung bereits innerhalb der Verdauungszeit eintritt. Die wirksame Fermentmenge ist offenbar gleich den Flächen, die begrenzt werden, von jener geraden oder gebrochenen Linie, der der Versuchszeit entsprechenden, überall gleichen Grundlinie und der die am Ende des Versuchs erreichte Wirksamkeit darstellenden Höhe; es sind also im ersten Falle Dreiecke, im zweiten Parallelepipeda. Ein Blick auf die Figur zeigt nun, daß die Fläche der Dreiecke proportional der am Ende des Versuchs erreichten Wirksamkeit, somit der Kinasemenge direkt proportional zunimmt, während in den Parallelepipeda die Fläche erheblich langsamer wächst, als der Verkürzung der Aktivierungszeit, die durch die gebrochenen Linien repräsentiert wird, entspricht. Ganz dasselbe Verhalten haben wir bei unseren Versuchen gesehen, das somit wohl seine Aufklärung findet.

Über den Angriffspunkt des Antitrypsins.

Nachdem über das gegenseitige Verhältnis von Trypsinogen, Enterokinase und Trypsin Klarheit gewonnen war, galt es, die Hemmungswirkung des Serums hinsichtlich ihres Angriffspunktes zu analysieren. Während man früher die Hemmung einfach als antitryptische bezeichnete, hat sich seit der Entdeckung der Enterokinase die Auffassung Geltung verschafft (Delezenne, Dastre), daß die Hemmung nicht gegen das gesamte Trypsin, sondern nur gegen die in ihm enthaltene Kinase gerichtet sei. Es ist klar, daß diese Auffassung nur von den Forschern vertreten werden konnte, die in der Kinase einen Bestandteil des Trypsins sahen. Dagegen deuteten Bayliss und Starling[1]), die der Kinase nur eine Rolle bei der Entstehung des Trypsins, nicht bei seiner Wirkung zuschrieben, die Hemmungswirkung des Serums im wesentlichen als antitryptische; jedoch glaubten auch sie, daneben das Vorhandensein einer Kinase im Serum nachgewiesen zu haben. Ihre Ansicht wird von E. Zunz[2]) geteilt.

---

[1]) Bayliss und Starling, Journ. of Physiol. 32, 129, 1905.
[2]) E. Zunz, loc. cit.

Ich wählte zur Entscheidung dieser Frage mehrere Wege. Zunächst wurde untersucht, ob bei vorheriger Einwirkung des Serums auf eine der beiden Komponenten eine stärkere Hemmung erfolgt, als wenn das Serum zu dem fertigen Gemisch gesetzt wird.

Versuch 4.

0,2 ccm Serum 1:50				
+ Trypsinogen 1:10	0,2	0,15	0,1	0,075 ccm
+ nach 30′ Kinase 1:10	0,4	0,3	0,2	0,15 „
	—	±	+	++
0,2 ccm Serum 1:50				
+ Kinase 1:10	0,4	0,3	0,2	0,15 ccm
+ nach 30′ Trypsinogen 1:10	0,2	0,15	0,1	0,073 „
	—	±	+	++
0,2 ccm Serum 1:50				
+ Trypsinogen 1:10	0,2	0,15	0,1	0,075 ccm
+ sofort Kinase 1:10	0,4	0,3	0,2	0,15 „
	—	±	+	++

Der Versuch zeigt, daß überall die Hemmung gleich gewesen war. Allerdings würde er nur dann eine gegen die Komponenten des Trypsins gerichtete Hemmung ausschließen, wenn man annimmt, daß die Hemmung des zum fertigen Gemisch gesetzten Serums in der Zeit der Verdauung nicht zur vollen Wirkung auf die Komponenten gelangt, während eine vorherige Einwirkung eine feste Bindung des Hemmungskörpers an den betreffenden Bestandteil ermöglicht.

Weiter wurde untersucht, ob die Hemmungswirkung des Serums durch einen Überschuß einer der beiden Komponenten überwunden werden kann. Die gleiche Menge Serum wurde zunächst zu Gemischen gesetzt, in denen die Trypsinogenmenge gleich war, während sie steigende Mengen Kinase enthielten. Die tryptische Wirksamkeit jedes Gemischs wurde gleichzeitig bestimmt.

Versuch 5.

	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2	0,15	0,1 ccm
0,4 ccm Trypsinogen 1:10 + 0,04 ccm Kinase 1:10 ad 2,0 ccm				—	±	±	±	+
+ 0,2 ccm Serum 1:50	—	±	+	++				

Versuch 5 (Fortsetzung).

	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2	0,15	0,1ccm
0,4 ccm Trypsinogen 1:10								
+ 0,08 ccm Kinase 1:10								
ad 2 ccm					—	±	±	+
+ 0,2 ccm Serum 1:40		—	±	+	++			
0,4 ccm Trypsinogen 1:10								
+ 0,2 ccm Kinase 1:10								
ad 2 ccm					—	±	±	±
+ 0,2 ccm Serum 1:50		—	±	+	++			
0,4 ccm Trypsinogen 1:10								
+ 0,4 ccm Kinase 1:10								
ad 2 ccm					—	±	±	±
+ 0,2 ccm Serum 1:50		—	±	+	++			

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist eine Vermehrung der Kinasemenge ohne Einfluß auf die Hemmung. Nur beim ersten Gemisch geht die Hemmung etwas weiter. Hier war aber auch die Verdauungswirkung geringer als bei den anderen Gemischen. Jedenfalls steht der Unterschied in der Hemmung in keinem Verhältnis zu der zehnfach gesteigerten Kinasemenge.

Anders gestalten sich die Verhältnisse bei einem Überschuß von Trypsinogen. Die Anordnung des Versuches war ganz analog der vorigen.

Versuch 6.

	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2	0,15	0,1ccm
0,4 ccm Trypsinogen 1:10								
+ 0,04 ccm Kinase 1:10								
ad 2,0 ccm				—	±	±	±	+
+ 0,2 ccm Serum 1:50	—	±	+	++				
0,8 ccm Trypsinogen 1:10								
+ 0,04 ccm Kinase 1:10						—	±	±
ad 2,0 ccm								
+ 0,2 ccm Serum 1:50				—	±	±	+	+

Wie nicht anders zu erwarten, war gegenüber dem trypsinogenreicheren Gemisch die Hemmung bedeutend geringer; aber naturgemäß war auch die tryptische Wirksamkeit des Gemisches seinem größeren Trypsinogengehalt entsprechend stärker, so daß durch diesen Versuch nur entschieden wird,

daß der Hemmungskörper nicht gegen die Kinase gerichtet, nicht aber ob er gegen das Trypsinogen oder gegen das Trypsin wirksam ist.

Ein weiterer Beweis gegen die Antikinasenatur des Hemmungskörpers ließ sich in folgender Weise erbringen. Bekanntlich gelingt die Aktivierung des Trypsinogens auch bei Abwesenheit von Kinase durch Kalksalze. Es fragte sich nun, ob ein durch Kalksalze aktiviertes Trypsin in gleicher Weise durch Serum gehemmt wird wie ein unter der Einwirkung von Kinase entstandenes. Mir gelang die Aktivierung des Trypsinogens durch Calciumchlorid nur in beschränktem Maße, insofern die Verdauungsstärke nicht denselben Grad erreichte wie bei der Aktivierung durch Enterokinase; dennoch war die Verdauungswirkung genügend, um den hemmenden Einfluß des Serums zu untersuchen.

Versuch 7.

	1,5	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3ccm
0,5 ccm Trypsinogen + 0,5 ccm n-$CaCl_2$-Lösung ad 2,0 ccm 6 Stunden bei 37°			−	±	+	++
0,5 ccm Trypsinogen + 0,5 ccm n-$CaCl_2$-Lösung ad 2,0 ccm + 0,2 ccm Serum 1:50	−	±	+	++		

Das Serum hatte also seine Hemmungswirkung gegenüber dem durch Calciumchlorid aktivierten Trypsin in gleicher Weise ausgeübt wie früher gegenüber dem unter der Einwirkung von Enterokinase entstandenen Ferment. In beiden Fällen ist bei Gegenwart von 0,004 ccm Serum etwa die doppelte Fermentmenge zur völligen Verdauung der Caseinlösung erforderlich. Auch mit diesem Ergebnis ist die Annahme, daß die Hemmungswirkung des Serums auf eine Antikinase zu beziehen sei, kaum vereinbar. Man müßte denn etwa annehmen, daß das Calciumchlorid bei der Aktivierung nicht direkt wirkt, sondern die Wirkung schon im inaktiven Pankreassaft in Spuren vorhandener Kinase begünstigt.

Endlich bot sich noch ein Weg, das Problem, ob Antitrypsinogen, Antikinase oder Antitrypsin vorhanden ist, einwandfrei zu

entscheiden. Er ging von der Tatsache aus, daß die Aktivierung des Trypsinogens durch die Kinase allmählich erfolgt. In ein und demselben Gemische ist zu verschiedenen Zeiten demnach die Trypsinogen- und Kinasenmenge stets die gleiche, während die Trypsinmenge variiert. Ist nun die Hemmungswirkung des Serums gegen das Trypsinogen oder gegen die Kinase gerichtet, wird also der Hemmungskörper durch sie abgesättigt, so müssen gleiche Mengen des Gemisches, ganz unabhängig von ihrer stärkeren oder schwächeren Verdauungswirkung, stets durch die gleiche Menge Serum gehemmt werden. Zeigt sich dagegen die zur Hemmung erforderliche Serummenge abhängig von der jeweiligen Verdauungswirksamkeit des Gemisches, so kann der Hemmungskörper nur gegen das fertige Trypsin gerichtet sein.

Der Versuch wurde so eingerichtet, daß eine größere Menge eines Trypsinogen-Kinasegemisches bei 37° gehalten und von Stunde zu Stunde die Verdauungswirkung mit und ohne Serumzusatz bestimmt wurde.

Versuch 8.

1,0 ccm Trypsinogen + 0,1 ccm Kinase ad 50,0 ccm.

	2,0	1,5	1,0	0,7	0,5	0,4	0,3	0,2	0,15ccm
Nach 1 Stunde	—	±	+	++	+	++			
„ 2 Stunden			—	±	—	±	+	++	
„ 3 „						—	±	±	+
„ 4 „							—	±	±
„ 6 „							—	±	±
„ 8 „									

1,0 ccm Trypsinogen + 0,2 ccm Serum 1:50.

	3,0	2,0	1,5	1,0	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3ccm
Nach 1 Stunde	±	+								
„ 2 Stunden		—	±	+						
„ 3 „				—	±	±	+	++		
„ 4 „					—	±	±	+	+	
„ 6 „							—	±	+	++
„ 8 „							—	±	+	++

Der besseren Übersicht wegen seien die Grenzen der Verdauungswirkung mit und ohne Serumzusatz nebeneinander gestellt.

Völlige Verdauung.

	Ohne Serum	Mit Serum
Nach 1 Stunde	2,0 ccm	4,0 ccm (?)
„ 2 Stunden	1,0 „	2,0 „
„ 3 „	0,5 „	1,0 „
„ 4 „	0,4 „	0,8 „
„ 6 „	0,3 „	0,6 „
„ 8 „	0,3 „	0,6 „

Wir sehen also, daß die Hemmungswirkung des Serums allein abhängig ist von der jedesmaligen Verdauungswirksamkeit des Gemisches. Je geringer die Verdauungswirkung, also die Menge des gebildeten Trypsins ist, um so größere Mengen des Gemisches vermag die gleiche Serummenge zu neutralisieren. Bei unserer Versuchsanordnung ist die zur völligen Verdauung des Caseins erforderliche Menge des Gemisches bei Serumzusatz genau doppelt so groß wie ohne diesen. Hiermit scheint mir der endgültige Beweis erbracht, daß die Hemmungswirkung des Serums nur gegen das fertige Trypsin gerichtet ist, daß Hemmungskörper gegen Trypsinogen oder Kinase im Serum nicht enthalten sind.

Dieses Ergebnis ist von allgemeinerer Bedeutung. Denn wäre die Hemmungswirkung des Serums durch eine Antikinase bedingt, so würden die Veränderungen im Hemmungstiter unter pathologischen Verhältnissen sehr schwer verständlich sein. Faßt man, wie ich glaube mit Recht, den Hemmungskörper des Serums als echten Antikörper auf, so müßte man, um seine Vermehrung zu erklären, der Enterokinase eine Bedeutung für den gesamten Organismus beilegen, die ihr offenbar nicht zukommt, oder müßte eine weite Verbreitung mit ihr identischer Kinasen im Körper annehmen, wofür alle Anhaltspunkte fehlen, nachdem sich die frühere Meinung, daß Kinasen in den Leukocyten enthalten sind, als irrtümlich erwiesen hat. Ist dagegen der Hemmungskörper des Serums gegen das Trypsin als solches gerichtet, so wird es verständlich, daß er auch gegenüber dem proteolytischen Ferment der Leukocyten wirksam ist, und es steht nichts der Anahme im Wege, daß er eine gleiche Wirkung auch gegenüber anderen intracellulären Tryptasen ausübt.

Immunisierungsversuche.

Im Anschluß hieran sei kurz über einige Immunisierungsversuche an Kaninchen berichtet. Den Tieren wurde wiederholt intravenös reines Trypsinogen, reine Kinase oder ein Gemisch beider, also fertiges Trypsin in steigenden Mengen injiziert. Eine Steigerung der antitryptischen Wirkung des Serums wurde nur nach Einspritzung des Gemischs von Trypsinogen und Kinase beobachtet. Die Injektion der Komponenten hatte keine Vermehrung des Antitrypsins zur Folge. Anderseits zeigte weder das Serum mit vermehrtem Antitrypsingehalt noch das Serum der mit Kinase oder Trypsinogen immunisierten Tiere bei der nach der oben beschriebenen Versuchsanordnung vorgenommenen Prüfung gegen ein allmählich wirksam werdendes Trypsinogen-Kinasegemisch irgend eine Unregelmäßigkeit, die auf die Anwesenheit eines Antitrypsinogens oder einer Antikinase hätte schließen lassen. Bayliss und Starling wollen auf immunisatorischem Wege eine Vermehrung der schon im normalen Serum von ihnen angenommenen Antikinase erzeugt haben. Da ich nur über zwei Versuche verfüge, muß die Frage offen bleiben. Antitrypsinogenbildung ist auch von anderen Autoren nicht beobachtet worden. Es wirkt also nur das aktive proteolytisch Ferment antigen, entweder weil die immunisatorisch wirksame Gruppe erst bei der Aktivierung entsteht oder weil nur das verdauende und somit schädigende Ferment den zur Antikörperbildung erforderlichen Reiz ausübt.

Über die Proportionalität von Hemmung und Serummenge.

Nachdem so festgestellt war, daß die Hemmungswirkung des Serums gegen das fertige tryptische Ferment gerichtet ist, galt es, die Art dieser Hemmung näher zu bestimmen. Zunächst war festzustellen, ob die Hemmung des Trypsins durch das Serum nach dem Gesetz der Multipla erfolgt. Es konnte hierbei so vorgegangen werden, daß untersucht wurde, ob mehrfache Serummengen entsprechende Trypsinmengen hemmen. Genauere Werte waren aber in der Weise zu erhalten, daß eine bestimmte Trypsinmenge mit steigenden Serummengen versetzt wurde und die restierende Verdaunngswirkung der Gemische im Reihenversuch festgestellt wurde. Ich gebe nachstehend zwei Versuchsreihen wieder. Die bei genauer Proportionalität zu erwartenden Werte sind beigefügt.

In beiden Versuchsreihen sehen wir eine im ganzen befriedigende Übereinstimmung zwischen den beobachteten und den berechneten Zahlen. Die Abweichungen erklären sich zum Teil dadurch, daß die einzelnen Stufen der Verdauungsgemischmenge nicht genau mit den aus der Berechnung sich ergebenden Werten zusammenfallen. Ob die Abweichungen in den letzten Werten, die sich in beiden Reihen, sowie in anderen nicht mitgeteilten Versuchen finden, in den tatsächlichen Verhältnissen begründet sind, möchte ich unentschieden lassen. Dagegen scheint mir die

Versuch 9.

	0,4	0,6	0,7	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	2,0	2,4	3,0	6,0 ccm	Wirksame Menge ccm	Verdauungswirkung in % beobachtet	berechnet
0,5 ccm Trypsin + Serum 1:10 00,0 ccm	±	—	—	—	—								0,6	100	100
0,05 „	±	±	—	—	—								0,7	86	88
0,10 „	+	±	±	—	—								0,8	75	75
0,15 „	+	+	±	±	—								1,0	60	63
0,20 „	+	+	±	±	±	—							1,2	50	50
0,25 „				+	±	±	±	—					1,6	38	38
0,30 „							++	+	±	±	—		3,0	20	25
0,35 „									++	+	+	—	6,0	10	13
0,40 „												+	∞	0	0

	0,15	0,2	0,25	0,3	0,4	0,6	0,8	1,0	1,4	2,0	2,4	3,0 ccm	Wirksame Menge ccm	Verdauungswirkung in % beobachtet	berechnet
0,5 ccm Trypsin + Serum 1:10 00,0 ccm	±	—											0,2	100	100
0,05 „	±	—											0,2	100	88
0,10 „	±	±	—										0,25	80	75
0,15 „	±	±	±	—									0,3	67	68
0,20 „	+	±	±	±	—								0,4	50	50
0,25 „	+	+	±	±	±	—							0,6	33	38
0,30 „				+	+	±	±	—					1,0	20	25
0,35 „										+	±	—	3,0	7	13
0,40 „												+	∞	0	0

Übereinstimmung in den ersten und den mittleren Werten dafür zu sprechen, daß die Absättigung des Trypsins durch das Antitrypsin nach stöchiometrischen Verhältnissen erfolgt. Es handelt sich hier also um die gleichen Verhältnisse wie bei der Bindung der Toxine an die Antitoxine.

Über fraktionierte Absättigung des Trypsins durch Antitrypsin.

Eine weitere Übereinstimmung mit der Toxin-Antitoxinbindung ergab sich bei der fraktionierten Absättigung des Trypsins durch Antitrypsin. Es wurde auch hier ein Danysz-Phänomen beobachtet, d. h. eine bestimmte Menge Serum vermochte mehr Trypsin zu hemmen, wenn dieses auf einmal zugefügt, als wenn dieselbe Menge in einzelnen Portionen hintereinander zugesetzt wurde. Dagegen war fraktionierter Zusatz des Serums zum Trypsin ohne Einfluß auf die definitive Verdauungswirkung.

Versuch 10.

4 ccm Trypsin + 2,0 ccm Serum ad 8,0 ccm; a = Trypsin im ganzen zum Serum zugefügt, b = Trypsin in Abständen von 15 Minuten 4 mal je 1,0 ccm zugefügt, c = Serum in Abständen von 15 Minuten 4 mal 1,5 ccm zu 4,0 ccm Trypsin zugefügt.

	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4 ccm
a	+	±	±	±	—
b	±	±	—	—	—
c	+	±	±	±	—

Der Unterschied zwischen a und b ist unverkennbar. Die Erscheinung ist wohl auch hier wie bei der Toxin-Antitoxinverbindung durch die kolloidale Natur der reagierenden Substanzen zu erklären.

Vorherige Einwirkung des Serums auf Trypsin.

Da vielfach angegeben wird, daß die Hemmung des Serums stärker ist, wenn es vor dem Verdauungsversuch längere Zeit auf das Trypsin eingewirkt hat, so wurde auch diese Frage geprüft. Eine Trypsinreihe wurde mit Serum versetzt und ihre Verdauungswirkung sofort untersucht. Eine andere, ganz ähnliche Reihe wurde zunächst 1 Stunde bei 37° gehalten und erst dann mit Caseinlösung versetzt.

Versuch 11.

	0,3	0,2	0,15	0,1 ccm
0,2 ccm Serum 1:50 + Trypsin sofort	—	±	+	++
nach einstündigem Aufenthalt bei 37°	—	±	+	++

Der Versuch zeigt, daß eine vorherige Einwirkung des Serums auf das Trypsin eine Verstärkung der Hemmungswirkung nicht zur Folge hat.

Versuche über Trypsinoidbildung.

Versuche, das Trypsin durch Erhitzen unter Erhaltung seiner antitrypsinbindenden Eigenschaften seiner fermentativen Wirkung zu berauben, also die Erzeugung eines Trypsinoids zu bewirken, gelangen nicht. Die Versuche wurden so angestellt, daß steigende Mengen Trypsin mit einer bestimmten Menge Serum und gleichzeitig mit erhitztem Trypsin versetzt wurden.

Versuch 12.

Trypsin	0,3	0,2	0,15	0,1 ccm
+ 0,2 ccm Serum 1:50 + 0,5 ccm erhitztes Trypsin	—	±	+	++
+ 0,2 ccm Serum 1:50	—	±	+	++

Die Hemmungswirkung des Serums war durch Zusatz des erhitzten Trypsins in keiner Weise vermindert worden. Die Trennung einer bindenden und einer fermentativ wirksamen Gruppe gelingt also beim Trypsin nicht.

Über die Hemmungswirkung des Antitrypsins bei 56°.

Die Einwirkung des Serumantitrypsins auf die Trypsinverdauung bei 56° wurde aus dem Grunde untersucht, weil vorgeschlagen worden ist, die Antitrypsinbestimmung bei dieser Temperatur vorzunehmen, um Bakterienwachstum zu verhüten. Außerdem durften hierbei gewisse Aufschlüsse über die Art der Trypsin-Antitrypsinbindung erwartet werden. Vor dem eigentlichen Versuche mußte das Verhalten sowohl des Trypsins allein wie des Antitrypsins beim Erwärmen auf 56° untersucht werden.

Versuch 13.

	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0,075	0,05	0,03 ccm
Trypsin vor dem Erwärmen	—	±	±	±	+	++				
„ nach „ „								—	±	±

Es findet also beim halbstündigen Erwärmen des Trypsins auf 56° eine Abschwächung seiner Wirksamkeit auf etwa den

zehnten Teil statt. Da aber im Trypsin-Antitrypsinversuch die Erhitzung des Trypsins nicht im reinen Zustand vorgenommen wird, sondern bei Gegenwart von Serum, so mußte die Einwirkung des Erhitzens auch bei analoger Versuchsanordnung untersucht werden. Es wurde das Trypsin zusammen mit Serum, das durch längeres Erhitzen seines Antitrypsingehaltes beraubt war, auf 56° erwärmt.

Versuch 14.

	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,15 ccm
Trypsin ohne Serum auf 56° erhitzt . .	—	±	±	±	+	+ +	+ +
Trypsin + 0,05 ccm Serum auf 56° erhitzt			—	—	±	±	+
Trypsin + 0,1 ccm „ „ „ „			—	—	—	±	±

Das Serum als solches hatte also eine deutliche Schutz wirkung ausgeübt. Das Erwärmen hatte bei Gegenwart des Serums nur eine Abschwächung auf etwa ein Viertel der ursprünglichen Wirksamkeit bewirkt.

Es fragte sich nun, wie sich die Verdauungswirkung des Trypsins bei 56° gestaltet.

Versuch 15.

	0,075	0,05	0,04	0,03	0,02 ccm
Verdauung bei 37° . . .	—	±	±	±	+
„ „ 56° . . .	—	—	—	—	±

Wir sehen, daß das Trypsin bei 56° eine etwa doppelt so starke Verdauungswirkung ausübt als bei 37°. Offenbar kommt aber die Steigerung der Wirksamkeit nicht rein zum Ausdruck; denn wir müssen annehmen, daß schon im Laufe der Verdauung infolge der hohen Temperatur eine teilweise Zerstörung des Trypsins stattfindet. Den Vorgang näher zu analysieren, ist nicht möglich, weil wir nicht wissen, ob und welche Schutzwirkung die Caseinlösung oder die Verdauungsprodukte auf das Trypsin ausüben.

Was das Antitrypsin betrifft, so hatte ein halbstündiges Erhitzen des Serums auf 56° eine Abschwächung der Hemmungswirkung auf etwa ein Fünftel zur Folge.

Versuch 16.

	0,2	0,15	0,1	0,075	0,05 ccm
0,2 ccm Serum 1:50 frisch + Trypsin . .	—	±	+	+	++
0,2 ccm Serum 1:10 auf 56° erhitzt + Trypsin	—	—	±	+	++

Es wurde nun der Hauptversuch angestellt. Steigende Trypsinmengen wurden mit der gleichen Menge Serum versetzt und je eine Reihe bei 37° und bei 56° der Verdauung überlassen.

Versuch 17.

0,5 ccm Serum 1:50 + Trypsin	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,25 ccm
bei 37°	—	±	±	+	++	++
bei 56°		—	—	±	++	++

Auf den ersten Blick scheint es, daß die Hemmungswirkung bei 56° geringer ist als bei 37°, da die völlige Verdauung schon von einer geringeren Trypsinmenge bewirkt wird. Berücksichtigt man aber die Werte, bei denen noch keine Spur einer Verdauung zu erkennen ist, so finden wir sie in beiden Reihen identisch = 0,3 ccm. Dieser scheinbare Widerspruch findet leicht seine Erklärung. Bis 0,3 ccm Trypsin werden durch das Antitrypsin vollständig gebunden. Die bei größerem Trypsinzusatz frei bleibenden Fermentmengen werden aber bei 56° eine viel stärkere Verdauungswirkung entfalten als bei 37°, so daß eine Menge, die bei 37° noch deutliche Trübung entstehen läßt, bei 56° schon vollständig verdaut.

Durch dieses Verhalten fällt aber auch ein Licht auf die Natur der Trypsin-Antitrypsinbindung. Würde der Hemmungskörper nur durch seine Anwesenheit, etwa als negativer Katalysator, die Trypsinverdauung hemmen, so wäre es höchst auffallend, wenn seine Hemmungswirkung bei höherer Temperatur genau in demselben Maße an Intensität zunehmen sollte wie die Fermentwirkung. Gerade dieses Konstantbleiben der Hemmung bei verschiedenen Temperaturen spricht mit Entschiedenheit für den Eintritt einer festen Bindung zwischen Trypsin und Antitrypsin.

Man darf weiter aus diesem Versuche wohl schließen, daß eine erhebliche Dissoziation der Trypsin-Antitrypsinverbindung durch die Temperaturerhöhung nicht verursacht wird. Denn bei der ungleichen Thermolabilität des Trypsins und des Antitrypsins müßte die Dissoziation in einer Verschiebung der

Wirksamkeit des Gemisches zum Ausdruck kommen. Allerdings liegen die Verhältnisse wegen des Ineinandergreifens verschiedener Prozesse sehr kompliziert, so daß die Frage nach der Festigkeit der Bindung zwischen Trypsin und Antitrypsin noch nicht endgültig entschieden werden kann.

Für die Praxis ergibt sich aus dem Versuche, daß eine Antitrypsinbestimmung bei 37° mit einer solchen bei 56° nur verglichen werden kann bei Anwendung einer Methode, die wie z. B. das Serumplattenverfahren den Beginn der Verdauung feststellt, dagegen nicht bei der Caseinmethode, die im allgemeinen nur das Ende der Verdauung bestimmt. Bei ihr ist die Versuchstemperatur von wesentlicher Bedeutung.

Ist das Antitrypsin artspezifisch?

Eine theoretisch nicht unwichtige, bisher widersprechend beantwortete Frage ist, ob das Serum-Antitrypsin artspezifisch, d. h. am stärksten gegen ein von der gleichen Tierart stammendes Trypsin wirksam ist. Ich untersuchte Sera von Mensch, Ziege, Hammel, Schwein, Rind und Hund. Als Trypsin wurden durch zweitägige Autolyse bei 37° gewonnene wässerige Extrakte verwendet, die durch entsprechende Verdünnung auf möglichst gleiche Wirksamkeit gebracht wurden.

Versuch 18.

Menschentrypsin.

0,5 ccm Serum 1:50 +	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6
Mensch . .	++	++	+	±	±	—
Ziege . . .	++	±	±	—	—	—
Hammel .	+	±	—	—	—	—
Schwein .	+	±	±	—	—	—
Rind . . .	+	+	±	—	—	—
Hund . .	±	—	—	—	—	—

Ziegentrypsin.

0,5 ccm Serum 1:50 +	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6
Mensch . .	++	++	+	+	±	—
Ziege . . .	++	+	±	—	—	—
Hammel .	+	±	±	—	—	—
Schwein .	+	±	±	—	—	—
Rind . . .	+	±	±	—	—	—
Hund . .	±	—	—	—	—	—

Hammeltrypsin.

0,5 ccm Serum 1:50 +	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6
Mensch . .	++	++	+	+	±	—
Ziege . . .	++	+	±	±	—	—
Hammel .	+	±	—	—	—	—
Schwein .	+	±	±	—	—	—
Rind . . .	±	±	±	—	—	—
Hund . .	±	±	—	—	—	—

Schweinetrypsin.

0,5 ccm Serum 1:50 +	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6
Mensch . .	++	++	+	±	±	—
Ziege . . .	++	+	±	—	—	—
Hammel .	+	±	—	—	—	—
Schwein .	±	±	—	—	—	—
Rind . . .	+	±	±	—	—	—
Hund . .	±	±	—	—	—	—

Rindertrypsin.								Hundetrypsin.							
0,5 ccm Serum 1:50	+	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6	0,5 ccm Serum 1:50	+	0,6	0,8	1,0	1,2	1,4	1,6
Mensch	+	+	+	+	+	±	—	Mensch	+	+	+	+	+	±	—
Ziege	+	+	+	±	±	—	—	Ziege	+	+	+	±	—	—	—
Hammel	+		±	—				Hammel	±		±	—	—	—	—
Schwein	+		±	±	—	—	—	Schwein	+		±	±	—	—	—
Rind	+		±	±	—	—	—	Rind	+		±	±	—	—	—
Hund	±		—	—	—	—	—	Hund	±		—	—	—	—	—

Die Tabellen zeigen, daß dem Antitrypsin keine Artspezifität zukommt. Die Hemmung gegenüber dem arteigenen Trypsin ist nicht größer als gegenüber artfremdem. Wir sehen, daß ein Serum, das ein Trypsin stark hemmt, dieselbe Wirkung gegenüber den anderen Trypsinen entfaltet, und daß ein schwach hemmendes Serum diese Eigenschaft gegenüber allen Trypsinarten zeigt. Die Sera zeigen in unserem Versuche nach ihrem Hemmungsvermögen geordnet eine stets wiederkehrende Reihe: Mensch, Ziege, Schwein, Rind, Hammel, Hund. Natürlich kann diese Reihe nicht den Anspruch auf Gesetzmäßigkeit erheben, da von jeder Tierart nur ein Serum untersucht wurde. Das aber geht aus unserem Versuche hervor, daß von einer Artspezifität nicht die Rede sein kann.

Dieses Ergebnis scheint mir von Bedeutung zu sein für die Entscheidung der Frage, ob das Antitrypsin ein echter Antikörper im Sinne der Immunitätslehre ist. Denn daraus, daß die verschiedenen Trypsine durch das Serum einer bestimmten Tierart gleich stark gehemmt werden, ergibt sich, daß ihnen nichts Arteigentümliches anhaftet. Das Trypsin besitzt also auch für den eigenen Körper nicht die Eigenschaft arteigener Substanzen, und es kann daher nicht überraschen, wenn der Organismus Antikörper gegen diese zwar ihm selbst entstammende, aber doch in gewissem Sinne nicht „arteigene" Substanz bildet. Es scheint sich hierbei um eine allgemeine Gesetzmäßigkeit zu handeln in dem Sinne, daß gegen Körperbestandteile, deren Antikörper keine Artspezifität zeigen, eine Antikörperbildung von seiten des eigenen Organismus möglich ist. So hat Uhlenhuth[1]) bei Meerschweinchen Antikörperbildung gegen ihre eigene Linsensubstanz, Adler[2]) bei Meerschweinchen gegen die eigenen Spermato-

[1]) Uhlenhuth, Verhandl. d. 3. Tagung d. Vereinig. f. Mikrobiologie 1909, S. 75.
[2]) Adler, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 3, 447, 1909.

zoen hervorrufen können, und die auf diese Weise gebildeten Immunkörper zeigten keine Artspezifität, sondern reagierten mit dem betreffenden Antigen, auch wenn es von einer anderen Tierart stammte. Offenbar liegt bei der Antitrypsinbildung, die wahrscheinlich als Immunitätsreaktion gegen die proteolytischen Fermente des eigenen Organismus zu deuten ist, ein analoger Vorgang vor.

Zusammenfassung.

Die Aktivierung des Trypsinogens durch die Enterokinase ist sehr wahrscheinlich ein fermentativer Vorgang. Der Grad der Aktivierung ist der Kinasemenge nicht proportional; sehr kleine Kinasemengen können bei genügend langer Versuchsdauer sehr große Trypsinogenmengen aktivieren. Die Geschwindigkeit der Aktivierung ist der Kinasemenge annähernd proportional. Die etwas stärkere Aktivierungswirkung großer Kinasemengen beruht wahrscheinlich zum Teil auf der Abkürzung des Aktivierungsprozesses, die die spontane Zerstörung von Trypsinogen und Kinase weniger zur Geltung kommen läßt. Kinaseüberschuß wirkt auf die Aktivierung nicht hemmend.

Der Hemmungskörper des Serums ist ein Antitrypsin, kein Antitrypsinogen und keine Antikinase.

Eine Antikinase ist auszuschließen, da durch Kinaseüberschuß die Hemmungswirkung des Serums nicht überwunden wird und da durch Chlorcalcium aktivierte Trypsinlösungen in gleicher Weise gehemmt werden wie durch Kinase aktivierte.

Antitrypsinogen und Antikinase sind auszuschließen, weil bei vorheriger isolierter Einwirkung des Serums auf Trypsinogen oder Kinase die Hemmungswirkung nicht stärker wird und weil die zur Hemmung eines allmählich aktiv werdenden Gemisches von Trypsinogen und Kinase erforderliche Serummenge nur von der Menge des jeweils entstandenen Trypsins abhängig ist.

In Immunisierungsversuchen gelang die Erzeugung von Antitrypsinogen und Antikinase nicht.

Die Absättigung des Trypsins durch das Antitrypsin folgt dem Gesetz der Multipla.

Bei fraktionierter Absättigung des Trypsins durch das Antitrypsin wird das Danysz-Phänomen beobachtet, d. h. die Hemmungswirkung ist geringer als bei einmaligem Zusatz.

Vorherige Einwirkung des Antitrypsins auf Trypsin bei 37° hat keine Steigerung der Hemmungswirkung zur Folge.

Die Darstellung eines nicht verdauenden, aber antitrypsinbindenden Trypsinoids durch Erhitzen gelingt nicht.

Das Trypsin wird bei halbstündigem Erhitzen auf 56° auf etwa ein Zehntel seiner Wirksamkeit abgeschwächt. Bei Gegenwart inaktivierten Serums ist die Abschwächung bedeutend geringer.

Die Verdauungswirkung des Trypsins ist trotz der Abschwächung bei 56° etwa doppelt so stark als bei 37°.

Das Antitrypsin wird bei halbstündigem Erhitzen auf 56° auf etwa ein Fünftel abgeschwächt.

Das Antitrypsin hemmt bei 37° ebensoviel Trypsin wie bei 56°. Auch hieraus folgt, daß das Antitrypsin nicht als negativer Katalysator wirkt, sondern eine Bindung mit dem Antitrypsin eingeht.

Dem Antitrypsin kommt keine Artspezifität zu; hierdurch wird die Antikörperbildung gegen körpereigenes Trypsin erklärlich.

Chemische Konstitution und physiologische Wirksamkeit von Alkoholen und Säuren.

II. Mitteilung.

Von

Jacques Loeb.

(Aus dem Physiologischen Institut der University of California.)

(Eingegangen am 1. November 1909.)

In früheren Arbeiten habe ich gezeigt, daß Süßwassercrustaceen (Daphnien und Copepoden), welche entweder indifferent gegen Licht oder negativ heliotropisch sind (d. h. von der Lichtquelle fortwandern), durch verschiedene Stoffe, insbesondere durch Säuren und Alkohole gezwungen werden können, positiv heliotropisch zu werden, d. h. sich zur Lichtquelle zu wenden.[1]) Die Reaktion tritt sehr rasch ein und ist äußerst scharf. Solche vorher indifferenten oder negativ heliotropischen Tiere sammeln sich auf Zusatz von beispielsweise einigen Kubikzentimetern kohlensäurehaltigen Wassers in einem dichten Haufen auf der Lichtseite des Gefäßes. Stellt man den Versuch bei Tieren an, welche schon vorher positiv heliotropisch waren, so verstärkt die Säure oder der Alkohol den schon bestehenden positiven Heliotropismus. Ich benutzte diese Umwandlung negativ heliotropischer Tiere in positiv heliotropische, um einige Aufschlüsse über die relative Wirksamkeit der Alkohole und Säuren homologer Reihen zu erlangen. Über die Methode der Versuche verweise ich auf meine früheren Arbeiten.[2])

1. Die Wirksamkeit der Alkohole.

Es wurde die minimale Konzentration der Alkohole bestimmt, welche negativ heliotropische Copepoden positiv heliotropisch machte, d. h. alle Tiere zwang, sich in einem dichten Haufen an der Fensterseite des Gefäßes anzusammeln. Zu den Versuchen dienten Glasgefäße mit etwa 50 ccm Leitungswasser,

[1]) Loeb, Univ. of California Publications 2, 1, 1904. Pflügers Archiv 115, 564, 1906.

[2]) Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen, S. 163, und: Die Bedeutung der Tropismen für die Psychologie. Leipzig 1909.

in die etwa 50 bis 100 Copepoden gebracht wurden. Als Lichtquelle diente das diffuse Tageslicht. Als Indicator für die Reaktion diente die Ansammlung aller Tiere in einem engen Bezirk an der Lichtseite des Gefäßes.

Die folgende Tabelle gibt die für verschiedene Alkohole gefundenen Konzentrationen.

Tabelle I.

Minimale Konzentration für die Erregung von positivem Heliotropismus bei Copepoden:

Äthylalkohol . . .	0,19 n
Propylalkohol . . .	0,054 n
Normaler Butylalkohol	0,019 n
Amylalkohol . . .	0,011 n

Der Leser wird ohne weiteres sehen, daß mit Ausnahme des Amylalkohols jeder folgende Alkohol etwa dreimal so wirksam ist als der voraufgehende. Auf diese Gesetzmäßigkeit hat J. Traube aufmerksam gemacht; die Versuche von Overton über Narkose und die von Führer und Neubauer über Hämolyse[1]) entsprechen dem Traubeschen Gesetz.

Der Vollständigkeit halber teile ich noch eine Versuchsreihe an Daphnien mit.

Tabelle II.

Minimale Konzentrationen für die Erregung von positivem Heliotropismus bei Daphnien:

Methylalkohol	0,6 n
Äthylalkohol	0,2 n
Prophylalkohol	$>$0,005 n
	$<$0,1 n
Isobutylalkohol	0,04 n

Auch hier ist für die ersten drei Glieder dieselbe Gesetzmäßigkeit vorhanden. Die Zahlen beider Tabellen stimmen so gut überein, wie das bei der Verschiedenheit des Materials und den Fehlergrenzen der Versuche zu erwarten ist.

Es war von Interesse, das Verhältnis der heliotropischen und narkotischen Wirksamkeit der Alkohole festzustellen. Als Maß der Narkose benutzte ich die minimale Konzentration der Alkohole, welche die Progressivbewegungen aller Individuen völlig

[1]) Führer und Neubauer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 333, 1907.

unmöglich machte. Als Versuchstiere dienten die Daphnien derselben Kultur, welche für den Versuch in Tabelle II benutzt worden waren.

Tabelle III.

Minimale Konzentration für die Narkose von Daphnien:

Methylalkohol	1,2 n
Äthylalkohol	0,6 n
Propylalkohol	0,2 n
Isobutylalkohol	0,12 n
Amylalkohol	0,04 n

Die Werte sind also zwei- bis dreimal so hoch als die Werte für die Erregung von positivem Heliotropismus.

2. Die Wirksamkeit von Säuren.

Für die Hervorrufung von positivem Heliotropismus sind Säuren viel geeigneter als Alkohole, weil sie viel rascher als die Alkohole wirken. Unter den Säuren ist die Kohlensäure am wirksamsten.

Ich gebe zunächst eine Versuchsreihe mit Fettsäuren wieder.

Tabelle IV.

Minimale Konzentrationen für die Erregung von positivem Heliotropismus bei Copepoden:

Ameisensäure	0,006 n
Essigsäure .	0,006 n
Propionsäure	0,005 n
Buttersäure	0,004 n
Valeriansäure	0,004 n
Capronsäure	0,0019 n

Man sieht erstens, daß die Wirksamkeit der Säuren bis zu 100mal so groß ist wie die der Alkohole und zweitens, daß eine Zunahme der Wirksamkeit der Säuren mit der Zunahme der Zahl der Kohlenstoffatome stattfindet. Die Traubesche Zahl gilt aber für diesen Fall nicht.

Eine Untersuchung der Wirksamkeit von HCl, HNO_3 und H_2SO_4 ergab, daß sie alle in derselben Konzentration die Copepoden positiv heliotropisch machen, nämlich bei 0,006 n. Sie sind also genau so wirksam wie die Ameisensäure.

In diesem Umstande unterscheidet sich die Wirkung der Säuren auf Daphnien von derjenigen auf das Seeigelei.[1]) Ge-

[1]) Loeb, diese Zeitschr. 15, 254, 1909.

meinsam ist aber beiden Fällen der Umstand, daß die Fettsäuren viel stärker wirken, als nach ihrem Dissoziationsgrad zu erwarten ist. Ich zog in meiner früheren Arbeit den Schluß, daß nicht die Wasserstoffionen in das Ei oder die Zelle diffundieren, sondern die undissoziierten Moleküle. Vielleicht ist es noch richtiger, anzunehmen, daß es sich um eine Verteilung der undissoziierten Säuremoleküle zwischen den Phasen Zellen — Wasser handelt.[1]) In der Zelle kann natürlich eine Dissoziation der Säuren eintreten und die Wirksamkeit kann der in dieser Phase vorhandenen Konzentration von Wasserstoffionen entsprechen.

Das rasche Wachsen der Wirksamkeit der Alkohole mit der Zunahme der Zahl der Kohlenstoffatome und das geringe Wachsen der Wirksamkeit der homologen Fettsäuren unter der gleichen Bedingung hat zur Folge, daß die höheren Alkohole ebenso wirksam für die Erregung von positivem Heliotropismus wie die entsprechenden Säuren sind, während für die niederen Glieder die Säuren viel wirksamer als die Alkohole sind. Die Zahlen der Tabelle V bringen das zum Ausdruck.

Tabelle V.

Minimale Konzentrationen für die Erregung von positivem Heliotropismus bei Copepoden:

Essigsäure	0,007 n
Äthylalkohol	0,17 n
Benzoesäure	0,003 n
Benzylalkohol	0,004 n

Während Essigsäure also rund 25mal so wirksam ist als Äthylalkohol, ist der Benzylalkohol fast ebenso wirksam wie die entsprechende Säure.

Das Ergebnis der Versuche besteht in dem Nachweise, daß auch für den hier als Indicator benutzten biologischen Prozeß, nämlich die Erregung von positivem Heliotropismus bei Süßwassercrustaceen, die Wirksamkeit der Alkohole dem Traubeschen Gesetz folgt; für die Säuren findet dagegen eine zwar nachweisbare aber relativ unbedeutende Zunahme der Wirksamkeit mit der Zunahme der Kohlenstoffatome im Moleküle statt.

[1]) F. Haber und Z. Klemensiewicz, Zeitschr. f. physikal. Chem. 67, 385.

Versuche über Resorption von Fetten im Dünndarm.

Von

W. Croner.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

(Eingegangen am 3. November 1909.)

Trotzdem das Problem der Verdauung und Resorption des Fettes im Darmkanal auf die mannigfachste Weise in Angriff genommen ist, besteht doch über wesentliche Punkte des Vorganges noch keine volle Klarheit. Wir wissen zwar, daß die Lipase des Pankreas, unterstützt durch die aktivierende Wirkung der Galle, eine weitgehende Spaltung des vom Magen in den Dünndarm gelangenden Neutralfettes bewirkt, wir wissen ferner, daß Seifen und freie Fettsäuren ebenso wie Neutralfette aus dem Darm verschwinden, und daß sie in den Lymphbahnen als Triglyceride wiedergefunden werden, wir wissen ferner, daß die verschiedensten Ester der Fettsäuren — z. B. die mit Äthylalkohol und die mit Cetylalkohol (Walrat) — im Darme gespalten werden und die betreffenden Säuren dann als normale Triglyceride in der Lymphe wiedergefunden werden; hingegen ist noch nicht entschieden, ob und wie weit die ältere Auffassung, daß das Fett bzw. die Fettsäuren in feiner Emulsion das Darmepithel passieren, zu Recht besteht, oder ob wir mit Pflüger die Löslichkeit in Wasser in Form von Seife, eventuell die Lösung in Galle, als Vorbedingung der Resorption der Fette ansehen müssen.

Mit diesen Lücken unseres Wissens hängt die Unklarheit darüber zusammen, ob die Wirkung des Bauchspeichels und der Galle mit der fermentativen Spaltung der Fette erschöpft ist, oder ob sie auch auf die resorbierenden Epithelien wirken,

deren Oberflächenspannung gegenüber dem Fett oder seinen Spaltungsprodukten ändern, vielleicht gar aktive, die Resorption vermittelnde Bewegungen der Epithelzellen auslösen, wie dies auf Grund mikroskopischer Beobachtungen Thanhofer[1]) und Fortunatow[2]) beim Frosch, Wiedersheim[3]) am Höhlenmolch und Spina[4]) am Fliegendarm angenommen haben.

Einige Aufklärung in bezug auf diese Frage war zu erhoffen, wenn man die Resorption in einem isolierten, weder Galle noch Bauchspeichel empfangenden Dünndarmabschnitte untersuchte, und zwar für Fette resp. deren Emulsionen einerseits, für die Spaltungsprodukte, freie Fettsäuren und Seifen andererseits. Durch passend dosierte Einführung dieser Stoffe konnte dann auch in dem angedeuteten Sinne der Effekt der Galle, des Bauchspeichels und anderen in Betracht kommender Substanzen auf die Resorption untersucht werden.

Dem Gesagten zufolge veranlaßte mich Herr Geheimrat Prof. Zuntz die Fettresorption im isolierten Dünndarm zu studieren und dabei zu ermitteln, in welchem Zustand sich das Fett befinden muß, wenn es vom Darm aufgenommen werden soll, und wie die Resorption durch verschiedene Einwirkungen auf das resorbierende Epithel einerseits, auf das in den Darm gebrachte Fett andererseits beeinflußt wird.

Diese Aufgabe war mit Hilfe der älteren Form von Darmfisteln nicht zu lösen, weil man bei diesen nicht die Möglichkeit hat, die normalen Füllungsverhältnisse des Dünndarms herzustellen. Diese werden bekanntlich durch die Funktion des Pylorus so geregelt, daß sich jederzeit nur eine ganz geringe Inhaltsmenge im Dünndarm befindet, welche diesen relativ schnell durchwandert; dabei wird das Fett vor Eintritt in den Dickdarm so gut wie vollständig resorbiert. Auch die Vellasche Modifikation der Thiryschen Fistel ermöglicht nicht genügend ein dem natürlichen Vorgange analoges Einbringen kleiner Inhaltsmengen, weil die Lage der oberen Öffnung neben der unteren Öffnung am Bauche zu Verlusten der eingebrachten Substanz führen muß, wenn die Öffnung nicht hermetisch ver-

[1]) Pflügers Archiv 8, S. 391.
[2]) Pflügers Archiv 14, S. 285.
[3]) Festschrift d. 56. Naturf.-Versamml. 1883.
[4]) Spina, Über Resorption u. Sekretion, Leipzig 1882.

schlossen ist. Es muß ferner die eingebrachte Substanz der Schwere entgegen sich bewegen; daher bleiben geringe Mengen in dem der natürlichen Beweglichkeit beraubten, an der Bauchwand liegenden Fistelmund liegen. Man wird deshalb auch hier unnatürlich große Mengen auf einmal in die Fistel bringen müssen.

Diesem Übelstand hilft die von Zuntz ersonnene, von S. Rosenberg[1]) beschriebene Modifikation der Thiry-Vellaschen Fistel dadurch ab, daß die obere Öffnung des isolierten Darmstücks am Rücken gelagert ist, so daß die einfließende Flüssigkeit zunächst der Schwere nach sich weiter bewegt, um weiterhin von der normalen Peristaltik des Fisteldarms erfaßt zu werden. Deshalb bedienten wir uns dieser Fistel zu unseren Versuchen und verfuhren in ihrer Anlage nach der von S. Rosenberg angegebenen Methode.

Das für die Fistel bestimmte Darmstück wird aus dem Zusammenhang herausgeschnitten, die Kontinunität des Darmes durch Naht, eventuell unter Anlage einer Seit-an-Seit-Anastome wiederhergestellt — letztere Methode zogen wir vor, da uns mehrere Hunde dadurch zugrunde gingen, daß Bandwürmer bzw. Rundwürmer bei der circulären Naht durch die Nahtstelle in die Bauchhöhle gekrochen waren —; der Fisteldarm wird so gelagert, daß das stomachale Ende durch die Rückenmuskulatur vor der einen Niere (wir nahmen stets die rechte) nach außen geführt wurde, während das anale Ende in die Bauchwunde eingenäht wird.

Im ganzen haben wir an 5 Hunden Versuche angestellt. Bei 3 Tieren wurde die Fistel aus dem oberen Teil des Dünndarms genommen, indem wir, unterhalb der Einmündungsstelle des Ductus pancreaticus beginnend, 60 cm abmaßen; bei 2 Hunden entnahmen wir die Fistel dem unteren Teil des Dünndarms; hier nahmen wir als untere Grenze die Region der Einmündung des Blinddarms in den Dünndarm. Hatten die Hunde die Operation überstanden, so waren sie vollkommen munter; sie hielten sich in dem Zustande $^1/_2$ bis $^3/_4$ Jahre. Bei keinem der Tiere stand die Todesursache erwiesenermaßen mit dem Vorhandensein des Fisteldarmes in Zusammenhang; insbesondere zeigte dieser selbst niemals Veränderungen, die auf einen länger bestehenden katarrhalischen Zustand hinwiesen. Die zu unseren Versuchen benutzten Hunde hatten ein Durchschnittsgewicht von 20 kg, die Länge des Fisteldarms betrug 60 cm, d. h. etwa $^1/_5$ der Gesamtlänge des Darmes. Die Operation wurde zumeist von Herrn S. Rosenberg, einige Male von Herrn Geheimrat Zuntz und von Herrn Prof. Caspari ausgeführt. Es sei mir gestattet, den genannten Herren an dieser Stelle hierfür meinen ergebensten Dank abzustatten.

[1]) Pflügers Archiv 73, S. 403.

Durch die von uns gewählte Methode war es uns ermöglicht, Flüssigkeiten in die Rückenöffnung (oberes Ende) hineinzubringen und die am Bauch heraustretenden Substanzen wieder zu bestimmen. Wir benutzten zum Einbringen unserer Lösungen ein T-Rohr, in das eine dünne Glasröhre derartig eingeblasen ist, daß das eine Ende des T-Rohrs luftdicht verschlossen ist, während an dem anderen sich ein kleiner Gummiballon befindet, der von dem seitlichen Ansatz her aufgeblasen werden kann. Dieser Gummiballon wird von der dünnen Glasröhre durchsetzt; seine untere Öffnung ist luftdicht auf dieser Glasröhre aufgebunden. Der Gummiballon wird in die obere Fistelöffnung eingeführt und dann so aufgeblasen, daß er den Darm luftdicht abschließt, während das andere offene Ende der dünnen Glasröhre mit einer Bürette in Verbindung gebracht wird, in der sich die auf ihre Resorptionsfähigkeit usw. zu prüfende Flüssigkeit befindet, um von hier durch die dünne Glasröhre in den Darm einzufließen. Durch eine Klemmschraube sowie durch jeweiliges Heben und Senken der Bürette wird das Einlaufen der Flüssigkeit geregelt. Um die Flüssigkeit auf Körpertemperatur zu halten, haben wir in manchen Fällen noch die Bürette mit einem mit Abfluß versehenen Zylindermantel umgeben, der mit warmem Wasser gefüllt wurde. Bei einem unserer Hunde war übrigens die Fistelöffnung derartig verengt, daß wir den Ballon entbehren konnten und statt des T-Rohrs ein unten konisch verjüngtes Glasrohr nehmen konnten. Die Hunde wurden zu den Versuchen auf eine Tischplatte gestellt, mit Tüchern an einem Galgen befestigt und dafür gesorgt, daß sie nicht mit der Schnauze an der Fistel lecken konnten. Eine vollständige Aufhängung des Hundes erübrigte sich, da die Hunde sich in der Regel sehr bald an ihre etwa 2stündige Schildwache derartig gewöhnten, daß uns durch die Unruhe des Tieres verhältnismäßig wenig Versuche mißglückten.

Daß die Untersuchungen am Fisteldarm insgesamt bestimmte Nachteile haben, wollen wir nicht verkennen, jedoch sind diese geringfügiger Natur und können bei einiger Vorsicht zur Genüge ausgeschaltet werden. So findet es Nagano[1]) als einen Nachteil der Vellafistel, daß sie erst zur Benutzung kommt, nachdem sie eine bestimmte Zeit ihrer normalen Funktion entzogen war; inzwischen könne die Darmschleimhaut der Schlinge sich verändern, besonders da sich meist früher oder später ein katarrhalischer Zustand der Schleimhaut einstelle, der sich in einer geringen Herabsetzung der Resorptionsfähigkeit und in einer Neigung zur Hypersekretion zu erkennen gebe. Nagano gibt jedoch auch zu, daß sich die Gefahren vermeiden lassen, und benutzt selbst zu seinen Versuchen diese Methode. Daß sich in der Tat bei einiger Vorsicht katarrhalische Zustände vermeiden lassen, konnten wir an unseren Versuchshunden sehen. Sogar ein Hund, der erst nach über $^3/_4$jähriger Versuchszeit zugrunde ging, zeigte an dem Fisteldarm nur geringe frische katarrhalische Veränderungen.

---

[1]) Pflügers Archiv 90, S. 389.

Allerdings sind eine Reihe von Kautelen zu berücksichtigen, die auch zum Teil den Forschern bekannt waren, die früher ähnliche Resorptionsversuche angestellt haben. Diese sind um so mehr zu beobachten, damit es gelingt, die zu vergleichenden Versuche unter möglichst gleichen Bedingungen auszuführen.

Der Regel nach machen wir alle Versuche in der Morgenstunde am nüchternen Hunde. Wie wir weiter unten zeigen werden, findet, wenn der Hund sich auf der Höhe der Verdauung befindet, zumal nach einer fettreichen Nahrung, eine lebhaftere Resorption statt. Wir werden an dieser Stelle auch auf die Frage zu sprechen kommen, wie weit andere Substanzen einen Reiz auf die Darmtätigkeit auszuüben imstande sind.

Ferner muß man darauf achten, daß die Flüssigkeit gleichmäßig langsam einfließt; so haben wir es bei den meisten unserer Versuche eingerichtet, daß die meist 30 bis 50 ccm betragende Menge in $1^1/_2$ Stunden einfließt. Für sorgfältige Spülung mit 0,9%iger Kochsalzlösung, eventuell noch mit 10%iger Alkohollösung muß Sorge getragen werden, um Reste unresorbierten Fettes wiederzugewinnen.

Wenn Hercher[1]) die Befürchtung ausspricht, daß bei Fettresorption die nicht resorbierte Masse zum großen Teil in dem der Darmwand fest anhaftenden Schleim sitzen bleiben und auch durch große Mengen Spülflüssigkeit nicht herausbefördert werden kann, so trifft dies für die Zuntzsche Modifikation der Thiry-Vellaschen Fistel nicht zu. Wir haben zu wiederholten Malen Fettemulsionen schnell durch die Fistel gejagt, nachher nachgespült, und fanden stets die gesamte Menge des eingegossenen Fettes in der Spülflüssigkeit wieder. Noch beweisender sind die Versuche, bei denen aus bestimmten Gründen nichts resorbiert wurde. Hier fanden wir in der Spülflüssigkeit die ganze benutzte Fettmenge wieder, mitunter sogar mit einem kleinen Plus aus dem Darmsekret. Hercher behauptet auch, daß die mangelhafte Resorption von Seifen, die er, ebenso wie wir, beobachtet hat, nur scheinbar sei, da die Seifen durch einen starken Reiz auf die Darmschleimhaut eine vermehrte Sekretion hervorrufen. Auf die Frage der Seifenresorption komme ich später zu sprechen. Hier möchte ich nur betonen, daß dieser Reiz bei unserer Versuchsanordnung wegfällt, oder wenigstens sehr erheblich herabgemindert wird. Bei der ursprünglichen Thiry-Vellaschen Fistel muß man die ganze Seifenmischung mit einem Male einführen und läßt sie 6 bis 8 Stunden einwirken. Bei uns wird die Darmschleimhaut den normalen Bedingungen entsprechend immer nur mit einer geringen Quantität benetzt.

Es muß darauf Bedacht genommen werden, daß zwischen den einzelnen Versuchstagen keine zu großen Intervalle liegen. Wenn dies aus

[1]) Hercher, Inauguraldissertation, Greifswald 1907.

äußeren Gründen aber der Fall ist, muß man den Fisteldarm 1 bis 2 Tage vor dem Beginn der neuen Versuchsreihe durch Durchgießen einer geeigneten Flüssigkeit in Tätigkeit setzen. Es erwies sich dies als notwendig, da auch uns sich die Erfahrungen Gumilewskis[1]) zu bestätigen schienen, nach denen nur solche Versuche einen Vergleich untereinander gestatten, welche zeitlich nicht zu weit auseinander liegen. Nach Gumilewski zeigt der Darm, wenn an ihm lange Zeit nicht experimentiert worden ist, ein sehr gesunkenes Resorptionsvermögen, welches sich beim Wiederbeginn der Versuche im Verlauf derselben nur allmählich hebt. Werden täglich oder doch nur durch kurze Pausen getrennte Beobachtungen angestellt, so bleibt die Resorptionsfähigkeit der Schleimhaut sehr gleichmäßig. Allerdings dürfen Versuche mit reizenden Substanzen nicht so oft hintereinander wiederholt werden. Hier muß man hin und wieder eine kürzere Pause eintreten lassen.

Da wir in der Fistel nur einen Teil des Darms vor uns haben, müssen wir uns die Frage vorlegen, wie weit aus diesem auf die Resorptionsfähigkeit des ganzen Darms Schlüsse gezogen werden dürfen. Wir glaubten anfangs, daß die einzelnen Abschnitte des Dünndarms in ihrer Leistung sich nicht wesentlich voneinander unterscheiden würden, höchstens daß ebenso, wie es Röhmann[2]) für Stärke- und Rohrzucker und Lannois[3]) und Lépine für Traubenzucker und Pepton gefunden, der obere Darmabschnitt etwas besser resorbiert als der untere. Wir waren schon geneigt, unter gewisser Reserve die erhaltenen Resultate auf den ganzen Darm zu berechnen, als wir bei Versuchen am unteren Teil des Dünndarms an einer im wesentlichen gleichen Fistel so überwiegend bessere Resorptionsresultate erzielten, daß wir unsere bisherigen Anschauungen von der Fettresorption nicht unwesentlich modifizieren müssen. Es ist daher absolut unmöglich, irgendwelche an einzelnen Abschnitten des Darms erlangte Resorptionsresultate auf den ganzen Dünndarm des Individuums derart zu übertragen, daß wir die Resorptionsgrößen aus der Länge des Gesamtdarms im Verhältnis zum Fisteldarm berechnen.

Angeregt durch die Arbeiten Pflügers haben wir zunächst Versuche angestellt, um die Resorption von Seifen zu prüfen, da nach Pflügers Theorie alles Neutralfett erst verseift werden

---

[1]) Pflügers Archiv 39, S. 556.
[2]) Pflügers Archiv 41, S. 411.
[3]) Arch. de physiol. normale et path. 1883, S. 93.

muß, ehe es resorbiert werden kann. Man sollte daher erwarten, daß Seifen besonders leicht resorbiert werden.

Daß auf dem Wege der normalen Fütterung eingeführte Seifen resorbiert werden, ist bereits von Radziejewski[1]) unter Kühnes Ägide beobachtet worden, nachdem schon vorher Perewosnikow[2]) und Will[3]) die Frage aufgerollt hatten. Radziejewski fütterte Hunde mit Fleisch, dem eine gewogene Menge Seife zugesetzt war; die Bestimmung der Seifen im Kot ergab die Resorption der Seifen vom Darm. Einem anderen Hund gab er neben fettfreiem Fleisch eine aus Rüböl hergestellte Seife. Die nach 4 Monaten vorgenommene Obduktion zeigte reichlichen Erucingehalt im Fettgewebe, besonders der Muskeln. Die Seifen waren also resorbiert und vom Organismus in Neutralfett umgewandelt worden. Die schärfsten Beweise für die Resorption der in Seifen und in Estern enthaltenen Fettsäuren lieferte uns J. Munk[4]) in seinen gemeinsam mit Rosenstein angestellten Versuchen an einer Patientin mit Lymph(chylus)fistel. Die Tatsache, daß die Fettsäuren der verfütterten Seife resorbiert werden, gibt uns aber noch keinen Aufschluß über den Mechanismus der Resorption. Die Fettsäure konnte ja aus den Seifen frei gemacht und genau so, wie man dies vor Altmann und Pflüger allgemein annahm, in Form einer staubförmigen Emulsion resorbiert werden.

Wir benutzten zu unseren ersten Versuchen eine Lösung von Sapo medicatus, die wir erhielten, indem wir eine Menge von etwa 1,5 g in 50 ccm Wasser lösten. Der Fettsäuregehalt unserer Seife beträgt 85,03%.

Die Versuche wurden, wie bereits erwähnt, stets in der Weise angestellt, daß die meist 30 bis 50 ccm betragende Lösung im Laufe von etwa $1^1/_2$ Stunden gleichmäßig oder in kleinen Anteilen in den Darm eingelassen, die ausfließende Flüssigkeit in einer untergestellten Porzellanschale aufgefangen wurde. Am Schlusse folgte dann eine Spülung des Darms zumeist mit physiologischer Kochsalzlösung aus derselben Bürette oder auch aus einem mit dem engen Glasrohr an Stelle der Bürette verbundenen Trichter. Daß diese Spülung ausreicht, davon haben wir uns, wie oben angegeben, zu wiederholten Malen überzeugt. Der ganze Inhalt der Schüssel wurde unter Beigabe von etwas Seesand getrocknet, im Soxhletapparate mit Äther extrahiert, sodann der wieder getrocknete Rückstand mit alkoholischer Salzsäure verrührt, wieder getrocknet und nochmals extrahiert.

[1]) Virchows Archiv 43, S. 268.
[2]) Centralbl. f. med. Wiss. 1876, S. 851.
[3]) Pflügers Archiv 20, S. 255.
[4]) Virchows Archiv 123, S. 230 u. 284.

Die I. Extraktion ergab das Gewicht des etwa vorhandenen Neutralfettes, der freien Fettsäuren und des Cholesterins, die II. das der seifenartig gebundenen Fettsäuren.

Wir geben in den folgenden Tabellen I bis IX sämtliche Versuche wieder, die wir mit Sapo medicatus oder mit erucasaurem Natron an einer oberen Fistel angestellt haben. Wir geben in den Tabellen die Mengen gesondert an, die wir bei der I. Extraktion des getrockneten Materials erhielten, und die Mengen, die wir bei der Extraktion nach Ansäuerung mit salzsäurehaltigem Alkohol bekamen.

Tabelle I.[1])

(Hund II, obere Fistel; Seife in Wasser gelöst.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	I. Extraktion g	II. Extraktion g	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes g	Resorbiertes Fett[2]) g
1,587	1,349	0,494	0,835	1,329	+ 0,02
1,112	0,945	0,570	0,376	0,946	— 0,001
1,739	1,479	0,255	1,267	1,522	— 0,043
1,440	1,224	0,1795	1,000	1,1795	+ 0,045
1,551	1,319	0,530	0,796	1,326	— 0,007

Tabelle II.

(Hund II, obere Fistel; Seife mit Sodalösung.)

Sapo medicatus g	Sodalösung	Ätherextrakt d. Seife g	I. Extraktion g	II. Extraktion g	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes g	Resorbiertes Fett g
1,184	50 ccm 0,2%	1,007	0,276	0,635	0,911	+ 0,096
1,661	do.	1,412	0,4025	1,140	1,5425	— 0,1305
1,397	50 ccm 0,4%	1,188	0,332	1,086	1,418	— 0,230
1,033	do.	0,878	0,325	0,693	1,018	— 0,140
1,506	do.	1,281	0,185	1,105	1,290	— 0,009

[1]) Sofern in den folgenden Tabellen nichts besonderes angegeben, ist die Seife in 50 ccm Wasser gelöst.

[2]) Wir bezeichnen in unseren Tabellen die Menge des resorbierten Fettes mit +, die Quantität, um die das wiedergewonnene Fett etwa unsere ursprüngliche Fettmenge übertrifft (Beimengung von Darmsekret) mit —.

Tabelle III.

(Hund II, obere Fistel; Seife mit Zuckerlösung.)

Sapo medicatus	Ätherextrakt d. Seife	Traubenzucker	Sodalösung 0,4%	I. Extraktion	II. Extraktion	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes	Resorbiertes Fett	Resorbierter Zucker
g	g	g	ccm	g	g	g	g	%
1,346	1,264	1,0725	50	0,684	0,721	1,405	− 0,141	40,98
1,481	1,390	1,607	50	0,558	1,067	1,625	− 0,235	73,55
1,217	1,143	1,339	50	0,347	0,9905	1,3376	− 0,195	62,17

Tabelle IV.

(Hund II, obere Fistel; Seife mit Blutserum.)

Sapo medicatus	Ätherextrakt d. Seife	Blutserum	I. Extraktion	II. Extraktion	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes	Resorbiertes Fett
g	g	ccm	g	g	g	g
1,487	1,397	50	0,62	0,808	1,428	− 0,031
1,682	1,580	50	0,1315	1,2515	1,383	+ 0,197
						= 11,9%

Tabelle IVa.

(Hund II, obere Fistel; Injektionsflüssigkeit erwärmt.)

Sapo medicatus	Ätherextrakt der Seife	I. Extraktion	II. Extraktion	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes	Resorbiertes Fett
g	g	g	g	g	g
1,49	1,399	0,16	1,206	1,366	+ 0,033

Tabelle V.

(Hund II, obere Fistel; Seifenlösung von geringerer Konzentration.)

Sapo medicatus	Ätherextrakt der Seife	I. Extraktion	II. Extraktion	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes	Resorbiertes Fett
g	g	g	g	g	g
0,5675	0,533	0,1385	0,4355	0,574	− 0,041
0,4345	0,408	nicht gesondert extrahiert		0,391	+ 0,017
0,323	0,303	desgl.		0,384	− 0,081
0,3275	0,308	0,1595	0,2045	0,364	− 0,056

Tabelle VI.

(Hund III, obere Fistel; Seife in Wasser gelöst.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	I. Extraktion g	II. Extraktion g	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes g	Resorbiertes Fett g
0,888	0,779	0,331	0,590	0,921	−0,142
0,4755	0,412	0,164	0,480	0,644	−0,232
0,712	0,617	0,253	0,480	0,733	−0,116
0,418	0,362	0,302	0,087	0,389	−0,027

Tabelle VII.

(Hund II, obere Fistel; Seife und Pankreasextrakt.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt d. Seife g	Pankreasextrakt ccm	Fettgehalt d. Pankreasextraktes g	I. Extraktion g	II. Extraktion g	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes g	Resorbiertes Fett g
0,587	0,551	10	0,262	0,3175	0,473	0,7905	+0,023
0,4865	0,457	10	0,262	0,6525	0,223	0,8755	−0,1565

Tabelle VIII.

(Hund II, obere Fistel; Seife und Galle.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt d. Seife g	Galle ccm	Fettgehalt unserer Galle g	I. Extraktion g	II. Extraktion g	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes g	Resorbiertes Fett g
0,603	0,566	6	0,102	0,2255	0,3315	0,557	+0,111
0,645	0,606	4,2	0,062	0,315	0,295	0,61	+0,058
0,413	0,388	5	0,08	0,044	0,3065	0,3505	+0,1125

Die Versuche in Tabelle I zeigen, daß die gleiche Menge Fett zurückgeflossen ist, die in der Seife enthalten war. Die geringe resorbierte Menge im 1. Versuch dürfen wir = 0 setzen. Der 4. Versuch, in dem etwas, wenn auch nur eine minimale Menge, aufgesogen ist, ist dadurch von der anderen unterschieden, daß der Hund vorher gefressen hatte. Er ist aber gerade darum von besonderem Interesse, weil wir bei anderen Versuchen ebenfalls eine Verbesserung der Resorption während der Verdauungsperiode bemerkt haben (s. Tabelle XXI). Das Plus in dem 3. und 5. Versuch stammt aus vom Darm abgesonderten fettähnlichen Stoffen.

Wir lösten nun, um die Bedingungen für die Lösung der Seife günstiger zu gestalten, dieselbe statt mit Wasser mit Soda-

lösung und nahmen zunächst in den beiden ersten Versuchen der Tab. II 0,2%ige Lösung, in den 3 anderen Versuchen 0,4%ige Lösung. In dem 1. Versuch scheint eine Spur resorbiert zu sein, während in allen anderen Versuchen wieder ein Plus erscheint. In den drei letzten Versuchen, die stärkere Alkalescenz haben, dokumentierte sich die Reizwirkung der eingeflossenen Lösung durch Speichelfluß, bei dem einen Versuch sogar durch Erbrechen. Diese Reizung des Darmes dürfte auch Ursache der im 3. und 4. Versuche besonders erheblichen Absonderung fettähnlicher Stoffe in dem Versuchsdarm sein. Zur weiteren Klärung dieser Vermutung werden 100 ccm einer 0,4%igen Sodalösung in $1^1/_2$ Stunden durch die Fistel gegossen. Nach der Beendigung dieser Zeit wird mit 200 ccm Sodalösung schnell nachgespült. Die abgeflossene Flüssigkeit enthielt 0,099 g Fett. Bei einem zweiten, analog angestellten Versuch enthielt die Flüssigkeit 0,056 g Fett. Dieser Befund stützt die Annahme, daß das gewonnene Plus in unseren Versuchen vom Darmepithel sezerniert ist.

Um dem Einwand zu begegnen, daß unsere negativen Resorptionsresultate durch mangelnde Funktionsfähigkeit des Darmes verursacht waren, fügten wir bei mehreren analogen Versuchen (Tab. III) möglichst isotonische Traubenzuckerlösung zu der Seifenlösung, eigentlich etwas überflüssigerweise, da bereits Versuche, die wir zwischendurch mit einer Olivenölemulsion anstellten, genügten, um diesem Einwand zu begegnen, ebenso wie ein Versuch mit einer Lösung von 1,39 g Traubenzucker und 50 ccm Wasser, bei dem der Zucker bis auf 0,095 g resorbiert wurde.

Sie zeigen, daß Zucker resorbiert wurde, während die Seife unresorbiert blieb. Es ist sogar in diesen Versuchen die Menge der vom Darm abgesonderten, fettähnlichen Stoffe besonders groß. Es scheint fast, als ob der von der Sodalösung geübte Reiz durch die Beigabe des Zuckers verstärkt worden sei.

Es werden dann noch mehrere Versuche gemacht, bei denen wir, um die Lösung reizloser zu machen, die Seife in Blutserum lösten (Tabelle IV). Hier findet sich ein Versuch mit einem positiven Resorptionsresultat. Das ist um so beachtenswerter, weil wir mit dem Blutserum keine vollständige Lösung erhielten.

Da es denkbar erschien, daß das negative Ergebnis unserer Versuche dadurch bedingt wurde, daß sich die Lösung beim Erkalten in der Bürette nicht hielt, so umgaben wir die letztere mit einem Glasmantel, welcher mit heißem Wasser angefüllt wurde. Aber auch so blieb die Resorption aus. (Tabelle IVa).

Übrigens wurde die Erwärmung der Injektionsflüssigkeit bei allen folgenden Seifenversuchen durchgeführt. Wir benutzten nunmehr Seifenlösungen von geringerer Konzentration um zu sehen, ob hier vielleicht etwas resorbiert würde.

Wie aus Tabelle V ersichtlich, ist auch hier das Resorptionsresultat negativ.

In Tabelle VI geben wir die Seifenversuche wieder, die wir an Hund III anstellten, bei dem weder Seife noch irgend eine Fettemulsion resorbiert wurde, wie wir weiter unten zeigen werden (vgl. S. 120). Schon bei der Betrachtung der Tabellen I bis IV fällt es auf, daß wir einen beträchtlichen Teil Ätherextrakt bereits bei der ersten Extraktion vor der Ansäuerung mit salzsäurehaltigem Alkohol gefunden haben. Es ist nun interessant zu sehen, daß auch bei Hund III eine Zerlegung der Seife stattgefunden hat. Ob sie durch Resorption von Natrium oder durch Sekretion einer Säure zustande gekommen ist, können wir aus unseren Versuchen nicht entscheiden. Nach den Versuchen von Frank und Ritter[1]) spaltet die während der Digestion gebildete Kohlensäure Fettsäuren aus den Seifen ab; dies dürfte wohl auch bei uns der Fall gewesen sein.

Wegen der negativen Resultate der Seifenresorption schien es uns geeignet, gerade hier zu prüfen, ob und wie weit durch gewisse Substanzen die Resorption angeregt würde. Zunächst wollten wir den Einfluß des Pankreassaftes studieren. Hier blieb das Resultat negativ; bei einigen Versuchen erwies sich allerdings unser Pankreaspräparat später als unwirksam, aber auch bei einer Pankreasmischung, von deren fettspaltender Wirksamkeit wir uns vorher überzeugt hatten, fanden wir den gleichen negativen Erfolg, wie Tabelle VII zeigt.

Wir nahmen nunmehr Galle aus der Gallenfistel eines Hundes und gossen sie gesondert in die Fistel, um zu sehen,

[1]) Zeitschr. f. Biol. 47, S. 251, 1905.

wie weit die Galle die Resorption beeinflußt. Die erhaltenen Resorptionswerte (vgl. Tabelle VIII) sind zu gering, um eine Seifenresorption mit Sicherheit zu beweisen. Sie übersteigen kaum den Fettgehalt der Galle.

Es blieb nun noch die Frage zu erörtern, ob in der Tat keine Seife resorbiert wird oder ob nicht etwa eine vorhandene Resorption dadurch verdeckt wird, daß die Darmwand Fett sezerniert hat und so das ausfließende Fett vermehrt wird.

In der Tat ist von Hercher[1]), wie oben bereits erwähnt, behauptet worden, daß die Seifenlösungen auf die Darmschleimhaut eine Reizwirkung ausüben, die einerseits die resorbierende Tätigkeit schädigen, andererseits die sekretorische Tätigkeit anregen kann. Er fand nämlich, daß Natronseifen vom Dünndarm zwar resorbiert werden, aber die in den Versuchen tatsächlich als resorbiert nachgewiesenen Mengen oft recht klein sind. Wir haben oben bereits darauf hingewiesen, daß bei der von uns angewandten Methode der Reiz kein so starker sein kann. Zudem wäre es sonderbar, wenn sich Resorption und Sekretion einander so die Wage hielten, wie es nach unseren Resultaten sein müßte. Drittens haben wir, wie wir später zeigen werden, in anderen Abschnitten des Darms eine deutliche Seifenresorption erhalten. Um aber den Einwand vollends zu widerlegen, machten wir Versuche mit einer Seife, deren Fett im menschlichen Organismus nicht vorhanden ist, mit Erucaseife. Da die einzelnen Portionen zu gering sind, um das Rüböl zu bestimmen, werden mehrere Versuche angestellt und geprüft, ob in der Gesamtmenge Rüböl vorhanden ist.

Tabelle IX.

(Hund II, obere Fistel; Versuch mit Erucaseife).

Erucafett g	I. Extraktion g	II. Extraktion g	Menge des wiedergefundenen Fettes g	Resorbiertes Fett %
0,5795	0,345	0,2405	0,5855	— 0,006
0,5965	0,3105	0,266	0,5765	+ 0,02
0,306	0,2065	0,199	0,4055	— 0,0995
0,272	0,105	0,140	0,245	+ 0,027
0,376	0,1705	0,014	0,1845	+ 0,1915
0,464	0,1895	0,327	0,5165	— 0,0525

[1]) a. a. O.

Sind auch die Werte der Resorption verschieden, so ist doch wenigstens deutlich, daß auch hier bei der ersten Extraktion ohne Zusatz von Salzsäurealkohol größere Mengen Fett in Lösung gehen. Sind diese nun Erucin oder Körperfett? Um dieses festzustellen, sind die vier letzteren Versuche gesammelt und nach der von I. Munk[1]) angegebenen Methode aus dem Bleisalz der Erucingehalt des Fettes bestimmt worden. Dabei ergibt sich, daß 82% erucasaures Blei vorhanden sind, also hat bereits im Darm eine Zerlegung der Seife stattgefunden.

Wie gesagt, war die Einwirkung von Galle nahezu, die von Pankreas gänzlich unwirksam auf die Resorption von Seifen. Schon vor den hier mitgeteilten Seifenversuchen hatten wir an Hund I solche mit Fettemulsionen angestellt und haben erhebliche Resorption beobachtet; auch hier wurde der Einfluß der Verdauungssekrete auf die Größe der Resorption geprüft, aber auch einige andere Zusätze in das Bereich der Beobachtung gezogen, von denen man erwarten konnte, daß sie die Lösungsverhältnisse des Fettes und seine Adhäsion an der Oberfläche des Epithels beeinflußten. In diesem Sinne prüften wir den Einfluß des Alkohols. Wir stellen die erhaltenen Werte in den folgenden Tabellen X bis XIII nebeneinander. Tabelle X gibt uns die Werte, die wir bei einer Lebertranemulsion ohne Hinzufügung von Alkohol erhielten, Tabelle XI mit Zusatz von Alkohol, Tabelle XII die Resorptionsresultate von Lipaninemulsion ohne Alkohol, Tabelle XIII Lipaninemulsion mit Alkohol.

Wichtiger sind die Versuche mit Zusatz von Galle, ebenfalls bei Hund I (Tabelle XIV). Tabelle XV und XVI geben Versuche mit Milch ohne bzw. mit Galle wieder. Bei dem in Tabelle XVII angegebenen Versuch mit Lipanin wird die Galle nicht vorher mit dem Fett vermengt, sondern gesondert eingegossen, und zwar einmal vor dem Versuch und ein zweites Mal in der Mitte des Versuches, jedesmal 10 ccm.

Ein weiterer Versuch (Tabelle XVIII) wird an dem bereits bei den Seifenversuchen erwähnten Hund III angestellt, bei dem überhaupt nichts resorbiert wurde oder doch nur nach Eingießen von Salzsäure. Hier sollte gesehen werden, ob die Galle etwa in analoger Weise wirkt wie die Salzsäure. Der

[1]) Virchows Archiv 95, S. 431.

erste Versuch wird in der Weise angestellt, daß einem Hund mit Pawlowscher Gallenfistel 6 ccm entnommen und diese so eingeführt werden, daß immer nur geringe Quantitäten mit einem Male einfließen, der zweite so, daß die Galle mit der Ölemulsion vermischt wird.

Tabelle X.

(Hund I, obere Fistel; Lebertranemulsion.)

Lebertran g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
1,021	30	0,404	39,57
0,833	30	0,375	45,02
1,073	30	0,467	43,71
			i. M. 42,77

Tabelle XI.

(Hund I, obere Fistel; Lebertranemulsion und Alkohol.)

Lebertran g	Sodalösung 0,4% ccm	Alkohol 6% ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
0,761	30	2	0,323	42,44
0,883	30	5	0,362	41,00
0,808	30	5	0,365	45,17
				i. M. 42,87

Tabelle XII.

(Hund I, obere Fistel; Lipaninemulsion.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
1,085	50	0,085	7,84
1,443	50	0,1555	10,78
1,818	50	0,0945	5,2
			i. M. 7,94

Tabelle XIII.

(Hund I, obere Fistel; Lipaninemulsion und Alkohol.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Alkohol 5% ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
1,391	30	10	0,096	6,9
1,8795	30	10	0,1295	6,89
				i. M. 6,9

Tabelle XIV.

(Hund I, obere Fistel; Lebertranemulsion und Galle, Fettgehalt der Galle nicht berücksichtigt.)

Lebertran g	Ochsengalle ccm	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
1,006	5	50	0,426	42,34
1,354	5	50	0,774	57,16
1,160	3	50	0,359	30,94
				i. M. 43,48

Tabelle XV.

(Hund I, obere Fistel; Milchversuch.)

Milch ccm	Fettgehalt der Milch g	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
60	0,978	0,097	9,92
60	1,538	0,183	11,9
			i. M. 10,91

Tabelle XVI.

(Hund I, obere Fistel; Milch und Galle.)

Milch ccm	Galle ccm	Fettgehalt der injizierten 50 ccm-Mischung g	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
90	10	0,555	0,299	26,93
90	10	0,515	0,277	26,89
				i. M. 26,91

Tabelle XVII.

(Hund I, obere Fistel; Lipanin und Galle.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Fettgehalt der Galle g	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
1,49	50	0,195	0,2335	13,86
1,594	50	0,154	0,286	16,36
1,565	50	0,154	0,502	29,20
				i. M. 19,81

Tabelle XVIII.

(Hund III, obere Fistel; Olivenöl und Galle.)

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Galle ccm	I. Extraktion g	II. Extraktion g	Gesamtmenge des wiedergewonnenen Fettes g	Ergebnis %
1,374	50	6	0,3867	0,054	0,441	67,90
1,738	50	6 Fettgehalt unberücksichtigt	0,6616	0,0384	0,700	59,72
						i. M. 63,81

Nach den Tabellen X bis XIII ist die Resorption durch den allerdings nur in geringem Prozentsatz zugesetzten Alkohol nicht verändert. An den Versuchen mit Lebertran ist ebenso wie an denen mit Seife (Tabelle VIII) kein deutlicher Einfluß der Galle erkennbar. Eine deutliche Verbesserung der Resorption durch Galle ist nur bei den Versuchen mit Lipanin und besonders mit Milch zu sehen, sowie bei Olivenöl an dem sonst nicht resorbierenden Hund III.

Diese Erfahrungen können etwas zur Klärung der divergierenden Anschauungen über die Momente, welche bei der bekannten Förderung der Fettresorption durch die Galle in Betracht kommen, beitragen. Da die Galle als solche keine fettspaltende Wirkung ausübt, vielmehr nur die Tätigkeit der Lipase des Pankreas erheblich steigert, kann in den mitgeteilten Versuchen, in welchen das Pankreasenzym ausgeschlossen ist, eine chemische Wirkung der Galle nicht in Betracht kommen.

Mit Voit[1]) und Röhmann[2]) können wir annehmen, daß die Galle einen Reiz auf die Epithelzelle ausübt und sie zur Funktion anreizte. Es kann sich hier aber auch um eine bereits von Bidder und Schmidt[3]) erwogene Möglichkeit handeln, daß nämlich die Benetzung der Epithelzellen mit Galle deren Adhäsion zum Fette steigere und den Durchgang der letzteren erleichtere.

Zur Stütze dieser physikalischen Theorie sind die Versuche von Wistinghausen[4]) geeignet. Er zeigte, daß die Benetzung mit Galle Membranen für Fette leichter durchgängig macht, indem sie die Capillarattraktion steigert. Allerdings hat Gröper[5]), der die Wistinghausen-

[1]) Bischofs Jubiläumsschrift, Stuttgart 1882.

[2]) Pflügers Archiv 29, S. 509.

[3]) Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel, 1852.

[4]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1873, S. 137.

[5]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1889, S. 505.

schen Versuche nachprüfte, diese nicht bestätigt gefunden. Thanhofer[1]) sieht in der Galle einen Erreger für die Stäbchen der Darmepithelien, welche nach seinen Beobachtungen durch flimmerähnliche Bewegungen die Fetttröpfchen in das Innere der Zellen befördern sollen, aus diesen hervorspringend und immer wieder in dieselben zurücktretend.

Die wichtigste Funktion der Galle bei der Resorption der Fette besteht aber wohl in ihrer Fähigkeit, Fettsäuren zu lösen. Diese Eigenschaft der Galle haben wir zunächst durch die Arbeiten von Moore und Rockwood[2]) kennen gelernt. Sodann hat auch Connstein[3]) auf das auffallend große Lösungsvermögen der Galle für freie Fettsäuren hingewiesen. Genaue Kenntnis über diese Wirksamkeit der Galle haben wir durch die diesbezüglichen Arbeiten Pflügers[4]) erlangt. Er erklärt die Gallenwirkung so, daß die Cholate die Fettsäuren lösen, weil sie dieselben locker binden, um sie auf Natriumcarbonat und bereits gebildete neutrale Seifen zu übertragen. Deshalb, weil die Cholate selbst hierbei keine Zersetzung erleiden, ist eine kleine Menge derselben befähigt, den Übergang beliebig großer Mengen von Fettsäuren in neutrale und saure Seifen zu vermitteln. Die Galle muß demnach, da sie die Löslichkeit der Seifen in sehr erheblichem Maße steigert, die Resorption der Fette im Jejunum und Ileum sehr befördern. Diese Beihilfe hat wohl ihren Grund darin, daß die Galle sich mit den Seifen in der lockeren Bindung der Fettsäuren teilt, und so die Zahl der löslichen Moleküle vermehrt.

Betrachten wir nun die Ergebnisse unserer Gallenversuche, so ist, wie gesagt, zunächst bei dem sonst nicht resorbierenden Hunde III ein Einfluß der Galle zu sehen. Bei diesem Hund hat offenbar der Reiz des Fettes selbst nicht genügt, um auch nur eine geringe Resorption zustande zu bringen; um so prägnanter zeigt sich hier die Wirkung der Galle. Welcher Art diese Einwirkung ist, bleibt fraglich. Wenn bei dem Versuch mit Lebertran im Gegensatz zu dem Lipaninversuch kein merklicher Einfluß der Galle beobachtet wurde, so kann dies vielleicht daran liegen, daß wir hier die Galle vorher mit der Emulsion vermengt hatten, während wir bei den Lipaninversuchen die Galle gesondert eingossen. Hier hat also die Galle viel direkter und konzentrierter auf die Epithelzellen einwirken können. Eigenartig ist, wie auch bei anderen Fettresorptionsversuchen, wieder das Verhalten der Milch.

---

[1]) Pflügers Archiv 8, S. 391.
[2]) Journ. of Physiol. 21, S. 373.
[3]) Med. Woche 1900, Nr. 15.
[4]) Pflügers Archiv 88, S. 299, 431 u. 90, S. 90.

Das Versagen des oberen Teiles des Dünndarms in bezug auf Seifenresorption wird auch durch die Einwirkung der Galle nicht aufgehoben (vgl. Tab. VIII).

Die Pankreasversuche sind in der Tabelle XIX angegeben. In der letzten Kolonne befinden sich die Durchschnittszahlen derselben Lösungen ohne Pankreasbeimengungen. Der erste der beiden Versuche mit Olivenöl ist nicht einwandfrei, da der Hund während des Versuches starkes Erbrechen hatte. Wenn wir dann von dem einen Versuch mit Milch absehen, so ist aus unseren Versuchen zu sehen, daß das Pankreas eine Resorption fördernde Wirkung ausübt. Ob der negative Versuch mit Milch auf Unwirksamkeit des Pankreas zurückzuführen ist oder darauf, daß die Milch unter Beimengung von Pankreas gerinnt, sei dahingestellt. Die starke Differenz der Lipaninversuche ist dadurch begründet, daß die Pankreaslösung beim zweiten Versuch an Wirksamkeit eingebüßt hatte. Allerdings war sie, wie eine vorherige Prüfung zeigte, noch wirksam.

Tabelle XIX.

(Hund I, obere Fistel; verschiedene Fettemulsionen und Pankreasextrakt.)

Verwendetes Fett	Sodalösung 0,4% ccm	Pankreasextrakt ccm	Mischung zur Fettbestimmung ccm	Fettgehalt der Mischung g	Resorbiertes Fett ccm	Ergebnis %	Durchschnittswert ohne Zusatz von Pankreas %
Lebertran 40 Tropfen	60	20	50	0,854	0,536	62,76	42,77
Olivenöl 50 Tropfen	60	20	50	0,886	0,096	10,84	26,645
Desgl.	60	20	45	1,285	0,446	34,71	
Milch 80ccm		20	50	0,954	0,095	9,96	10,91
Desgl. 80ccm		20	50	1,196	0,336	28,09	
Lipanin 50 Tropfen	60	20	50	1,530	0,7555	49,38	7,94
Desgl.	60	20	50	1,482	0,1955	13,19	

Wir benutzten für unsere Versuche einen Extrakt vom Pankreas des Rindes. Das Pankreas wurde in möglichst kleine Teile zerschnitten, gepreßt und koliert; es wird darauf geachtet, daß auch Pankreaszellen noch im Extrakte vorhanden sind. Pankreon konnten wir nicht benutzen, da das im Pankreon enthaltene Tannin die Emulsion zerstörte.

Zwei Versuche, welche mit Pankreasextrakt und Galle gemischt angestellt wurden, sind in Tabelle XX wiedergegeben. Es wurde hierbei Fett, Galle, Pankreasextrakt und Soda miteinander vorher verrührt.

Tabelle XX.

(Hund I, obere Fistel; Fettemulsionen mit Pankreas und Galle.)

	Galle ccm	Pankreasextrakt ccm	Sodalösung 0,4% ccm	Mischung zur Fettbestimmung ccm	Fettgehalt der Mischung ccm	Resorbiertes Fett ccm	Resorption %
Lipanin 50 Tropfen	10	20	60	50	0,426	0,1625	38,145
Lebertran 40 Tropfen	2,4 ccm auf 20 ccm Wasser	20	60	50	0,484	0,272	56,19

Es ist die Resorptionssteigerung nicht größer als bei Pankreaszusatz ohne Galle. Ein abschließendes Resultat geben unsere Pankreasversuche noch nicht, dazu sind sie wohl auch an Zahl zu gering. Es wird auch immer schwer sein, gute Parallelversuche zu erhalten, da die Wirksamkeit des Pankreasextrakts sehr verschieden ist.

Von der Anschauung ausgehend, daß auch der Fisteldarm von den Verdauungsvorgängen, die sich im übrigen Darme abspielen, beeinflußt werden könne, machten wir Versuche vier Stunden nach einer fettreichen Nahrung (s. Tabelle XXI).

Tabelle XXI.

(Hund I, obere Fistel; Versuch am verdauenden Tier.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %	Durchschnittswert %	Durchschnitt der früheren Lipaninversuche %
1,5135	50	0,382	25,24	21,21	7,94
1,345	50	0,231	17,175		

Bei dem Versuch zeigt sich noch ein anderes auffälliges Symptom; während bei den analogen Versuchen am nüchternen Tier die ausfließende Menge 20, 23, 31, also im Durchschnitt 24,67 betrug, betrug sie bei den letzten Versuchen nur 8 und 13, d. i. im Durchschnitt 10,5. Leider konnten bei späteren Versuchen an anderen Hunden hierüber keine weiteren Be-

obachtungen angestellt werden, da diese zum Teil die ganze eingegossene Flüssigkeit während des Versuches zurückhielten, so daß das nicht resorbierte Fett erst mit dem Spülwasser herausbefördert wurde. Die deutlich verbesserte Resorption während der Verdauungsperiode des Hundes kann man aus den Verhältnissen der Blutzirkulation erklären, wie es seinerzeit Leubuscher[1]) bei seinen Studien über Resorption seitens des Darmkanals getan hat.

Er beobachtete, daß Hunde, deren Darm bei Beginn des Versuches bereits in Resorption begriffen war, entschieden bedeutend mehr Flüssigkeit, Wasser, in der abgebundenen Darmschlinge resorbierten als solche, welche einige Zeit gehungert und gedürstet hatten. Er achtete auf dieses Moment besonders, da er das Gegenteil erwartet hatte; wenn die Diffusionsbedingungen allein maßgebend wären, hätte man annehmen sollen, daß bei Hunden, die mehrere Tage keine Flüssigkeit erhalten, und deren Blut konzentrierter war, die Resorptionsgeschwindigkeit größer sei. Leubuscher glaubt die Erklärung in folgendem zu finden: Bei einem in Resorption begriffenen Tier sind die Abdominalgefäße gefüllt, speziell die Gefäße der Darmwandungen stark injiziert. Die Blutzufuhr ist bedeutend gesteigert. Bei der großen Wichtigkeit nun, welche die Zirkulation für die Resorption besitzt, glaubt er wohl in der Erweiterung der Blutgefäße in dieser physiologischen Hyperämie die Ursache zu finden, die die Steigerung der Resorption bewirkt.

Weitere Versuche sind von uns gemacht worden, um die Wirkung der Verdauungssalzsäure auf die Fettresorption zu prüfen. Zunächst will ich hier darauf eingehen, was uns gerade zu diesen Versuchen veranlaßte. Wir stellten ursprünglich Versuche an Hund I an, um den Einfluß einer annähernd der Verdauungssalzsäure analogen Salzsäure auf den Darmsaft zu prüfen. Es wurden 100 ccm einer 0,3 %igen Salzsäure ohne vorher und nachher zu spülen im Zeitraum von 1 Stunde 3mal durch die Fistel gegossen. Die Abscheidung ist eine sehr lebhafte. Es fließen 140 ccm ab.

Die Bestimmung der Acidität vorher und nachher ergibt folgendes:

100 ccm Salzsäure entsprechen 465,05 mg Soda.

Der Chlorgehalt beträgt auf

100 HCl = 322 mg (nach der Silberbestimmung)
= 314 mg (nach der Säurebestimmung)

i. M. 318 mg

[1]) Leubuscher, Studien über Resorption seitens des Darmkanales. Jena 1885.

Bei den durchgeflossenen 140 ccm Flüssigkeit sind zur Neutralisation erforderlich = 235,7 mg Soda.

Der Chlorgehalt der 140 ccm Flüssigkeit beträgt 560 mg.

Aus diesem Resultat geht hervor, daß die Acidität bedeutend abgenommen hat, während der Chlorgehalt gestiegen ist. Es muß also Chlorid aus den Drüsen ausgeschieden sein. Es wird nun, um Wasserresorption durch den osmotischen Druck zu vermeiden, eine Salzsäuremischung hergestellt von demselben osmotischen Druck wie die physiologische Kochsalzlösung. Die betreffende Lösung besteht aus: 12 ccm Salzsäure (25%), 42 g Rohrzucker, Wasser auf 1 l aufgefüllt. Bei der Titration entsprechen

100 ccm Lösung = 453,84 mg Soda

Chlorgehalt für 100 ccm Lösung = 322 mg (Silberbestimmung)

= 304 mg (Säurebestimmung)

i. M. 313 mg

Es fließen aus 160 ccm und zwar am meisten in den ersten 3 Minuten, während später der Abfluß anscheinend ganz parallel dem Zufluß ist. Das Flüssigkeitsvolum ist also um 60 ccm gewachsen.

Die abgeflossene Flüssigkeit (160 ccm) entspricht

= 251,02 mg Soda

Chlorgehalt 624 mg

Es zeigt sich also auch hier eine ungefähr ebenso große Abnahme der Acidität und eine gleiche Zunahme des Chlorgehalts.

Nachdem wir erkannt hatten, daß die Salzsäure einen starken Reiz auf den Darm ausübt, wird ein Resorptionsversuch mit Fett gemacht, nachdem zuvor durch 10 ccm Verdauungssalzsäure die Absonderung von seiten des Darmes angeregt ist. Die ersten Versuche werden mit Lipanin angestellt. In der Mitte des Versuches werden noch einmal 10 ccm Salzsäure durchgegossen.

Es zeigt sich hier, wie aus Tab. XXII ersichtlich ist, daß eine bedeutende Verbesserung der Resorption eingetreten ist. Hand in Hand mit dieser Zunahme der Resorption geht auch hier eine Zunahme der Ausscheidung von Flüssigkeit. Die ausfließenden Mengen betragen 68, 89 und 74 ccm, also i. M.

77 ccm, während sie bei den früheren Lipaninversuchen 20, 23, 31 ccm betrugen, d. i. i. M. 24,67 ccm.

Analoge Versuche an Hund II sind in Tabelle XXIII wiedergegeben.

Während sich hier bei dem 1. Versuch wieder eine deutliche Besserung der Resorption zeigt, ist bei dem 2. Versuch überhaupt nichts resorbiert worden. Dieser Mißerfolg ist darauf zurückzuführen, daß hier versehentlich die Fettemulsion unmittelbar nach der Salzsäure eingegossen wurde, so daß diese weniger auf die Darmschleimhaut wirken konnte, dafür aber die Emulsion aufgehoben wurde. Die Abscheidung war auch bei diesen Versuchen eine lebhaftere als bei anderen an dem gleichen Hunde. Zahlenmäßig konnte sie nicht festgestellt werden, da bei dem Hunde die Flüssigkeit meist erst mit der Spülung abfloß.

Im Anschluß daran werden an Hund I zwei Versuche mit Salzsäure und Galle angestellt, in der Weise, daß zunächst 10 ccm Salzsäure, dann 10 ccm sterilisierte Rindergalle und dann nach 5 Minuten unsere Lipaninemulsion durchgegossen wurde. Die ausgeflossene Mischung wurde noch einmal durchgegossen, nachdem noch einmal Salzsäure und Galle in derselben Weise vorausgeschickt waren.

Bei beiden Versuchen ist, wie aus Tabelle XXIV zu ersehen, nichts resorbiert, dafür ist die Ausscheidung von Flüssigkeit eine noch viel stärkere, sie beträgt 132 und 150 ccm, d. i. im Mittel 141 ccm. Es scheint, daß die Wirkung der Salzsäure durch die Alkalescenz der Galle aufgehoben wurde.

Tabelle XXII.

(Hund I, obere Fistel; Lipanin und Salzsäure.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Verdauungssalzsäure ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %	
1,59	50		0,403	25,35	i. M. 22,73 (analoger
1,656	50	2 × 10	0,453	27,25	Versuch ohne Salz-
1,6325	50		0,2545	15,59	säure, i. M. 7,94%, cf. Tab. XII)

Tabelle XXIII.

(Hund II, obere Fistel; Lipanin und Salzsäure.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Verdauungssalzsäure ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %	Durchschnittswert ohne Salzsäurezusatz %
1,6365	50	10	0,2895	17,69	6,6
1,5785	50	10	+ 0,075	0	(cf. Tab. XXXIII)

Tabelle XXIV.

(Hund I, obere Fistel; Lipanin, Salzsäure und Galle.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Salzsäure und Galle	Fettgehalt der Galle g	Resorbiertes Fett g
1,7355	50	2 × 10 ccm	0,154	0
1,445	50	wie oben angegeben	0,154	— 0,125

Am deutlichsten wurde der Einfluß der Salzsäure bei dem mehrfach erwähnten Hund III, der in bezug auf die Fettresorption sehr eigenartige Verhältnisse darbot. Die Versuche an diesem Hunde seien an dieser Stelle näher angegeben.

Es wurden bei ihm zunächst eine Reihe von Versuchen mit einer Olivenemulsion gemacht, bei denen nichts oder doch nur ganz geringe Quantitäten resorbiert wurden (siehe Tabelle XXV).

Tabelle XXV.

(Hund III, obere Fistel; Olivenölemulsion.)

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Wiedergewonnenes Fett g	Resorbiertes Fett g	Resorption %
0,940	50	0,899	+ 0,041	4,36[1])
0,997	50	1,036	— 0,039	—
1,5085	50	1,7595	— 0,251	—
1,3585	50	1,504	— 0,1455	—
1,529	50	1,3885	+ 0.1405	9,19
1,288	50	1,260	+ 0,028	—
1,504	50	1,479	+ 0,025	—
1,419	50	1,385	+ 0,034	—
1,398	50	1,448	— 0,05	—
			i. M. — 0,024	

Um zu prüfen, ob etwa eine starke Abscheidung von Körperfett bei dem Hund besteht, werden 100 ccm physio-

[1]) Der Hund hatte vorher gefressen.

logischer Kochsalzlösung in $1^1/_2$ Stunden durchgegossen. Das damit abgeschiedene Fett beträgt 0,077 g.

Nunmehr wird versucht, durch verschiedene Reizmittel auf die Resorption einzuwirken, und zwar zunächst mit Alkohol. Es werden dazu 10 ccm einer 5%igen Lösung genommen, die vor dem Versuch eingegossen werden:

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Alkohol 5% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,317	50	10	0,074	5,61

Da also hier nichts merklich gebessert ist, wird versucht, durch Oleum sinapis einen Reiz auszuüben.

Tabelle XXVI.

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Senföl	Resorbierte Menge g
1,130	50	1 Tropfen	— 0,061
1,558	50	3 „	— 0,009

Die Versuche haben das Resultat, daß der Hund an einer akuten Nephritis erkrankt, die bald wieder heilt.

In Erinnerung an die Wirkung der Verdauungssalzsäure bei den anderen Hunden werden zunächst 100 ccm Verdauungssalzsäure in 1 Stunde durchgegossen. Es werden 140 ccm Flüssigkeit ausgeschieden, die 0,062 g Fett enthalten. Nunmehr wird, wie früher, ein Versuch mit der Emulsion gemacht, nachdem vorher 10 ccm Verdauungssalzsäure durchgegossen waren, mit folgenden Resultaten:

Tabelle XXVII.

(Hund III, obere Fistel; Olivenöl mit Salzsäure.)

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,522	50	0,837	54,99
1,391	50	0,318	22,86
1,7655	50	0.828	47,49
1,846	50	1,307	70,80[1])
1,3936	50	0,5964	42,79[1])

[1]) Die beiden letzten Versuche wurden auf meinen Wunsch von Herrn S. Rosenberg ausgeführt.

Um zu prüfen, ob die Salzsäure als solche Veranlassung ist oder ob allein die Benetzung der Darmschleimhaut mit Flüssigkeit genügt, wird ein analoger Versuch mit physiologischer Kochsalzlösung gemacht.

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Kochsalzlösung 0,9% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,365	50	10	0,056	4,1

Während also dieser Versuch negativ ausfällt, fällt ein Versuch mit Sodalösung positiv aus.

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Sodalösung 0,4% vorher eingegossen ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,2955	50	10	0,262	20,22

Sodann wird versucht, die Salzsäure durch Borsäure zu ersetzen:

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Borsäure 3% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,654	50	10	0,100	6,04

Es sollte kontrolliert werden, wieviel fettreicher infolge der Aufrahmung die zuletzt eingegossenen Portionen der Emulsion sind. Es wird daher bei einem Versuch der letzte schon zusammengeflossenes Fett enthaltende Teil abgegossen, mit Äther geschüttelt, getrocknet. Dabei ergibt sich eine Menge von 0,1837 g zusammengeflossenes Fett, die von der ursprünglichen Menge 1,711 g abgezogen wird, also haben wir 1,5273 g Fett zum Versuch genommen. Der Versuch zeigt, daß die Fettmenge, welche der Emulsion entgeht, nicht sehr erheblich ist.

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Wiedergewonnenes Fett g	Resorbiertes Fett g
1,527	50	1,604	— 0,077

Zwei Versuche mit Salzsäure, die in analoger Weise angestellt werden, ergaben folgendes:

Tabelle XXVIII.

Olivenöl g	Zurückbestimmt g	Verwendetes Fett g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,3995	0,196	1,2035	50	0,384	31,91
1,796	0,2294	1,5665	50	0,4985	31,82

Die beiden Versuche sind übrigens zeitlich viel später angestellt, als die oben angegebenen.

Über die an dem gleichen Hund angestellten Versuche mit Seife sowie Olivenöl und Galle s. Tabelle VI und XVIII. Wir wollen hier noch einmal darauf hinweisen, daß von der Seife analog den Seifenversuchen an den anderen Hunden nichts resorbiert wurde, dagegen hat die Galle sowie hier die Salzsäure zu einer starken Resorption des Olivenöls (63,81 %) angeregt.

Es zeigt sich also bei diesen Versuchen, daß der Salzsäure eine starke Beförderung der Fettresorption zukommt. Daß es sich nicht um eine einfache Reizung der Schleimhaut handeln kann, dafür spricht der Umstand, daß die anderen Reizmittel sich in ihrer Wirkung mit der Salzsäure nicht vergleichen lassen können. Ein Analogon für die hier sich zeigende spezifische Wirkung der letzteren haben wir in der zuerst von Pawlow beschriebenen Wirkung der in das Duodenum gebrachten Salzsäure auf die Sekretion der Bauchspeicheldrüse. Diese Sekretion beziehungsweise die sie auslösende Bildung von Sekretin tritt nur unter der Einwirkung von Säuren ein. Andere Flüssigkeiten und Reizmittel, wie Pfeffer und Senf, bleiben wirkungslos.

Wir haben in unserer Arbeit uns bereits mehrfach auf Resorptionsversuche bezogen, die wir mit Fettemulsionen angestellt haben, ohne auf diese Versuche selbst bisher näher eingegangen zu sein. Wir glaubten einer besseren Übersicht wegen auf eine chronologische Folge verzichten zu dürfen. In der Tat sind unsere Versuche mit den verschiedenen Fettemulsionen zum Teil früher als die bisher angegebenen Versuche angestellt, zum Teil zwischendurch, da sie uns vielfach zur Kontrolle dafür dienten, daß der Darm an seiner ursprünglichen Funktionsfähigkeit noch nichts eingebüßt hatte. Es ist bei der

Lektüre der Arbeit gewiß schon aufgefallen, daß dabei eine bedeutende Differenz zwischen den Ergebnissen bei den verschiedenen Fettarten vorhanden ist.

Wir wissen, daß die Schmelzbarkeit der Fette für die Resorption von Bedeutung ist. Zwar werden schwer schmelzbare Fette resorbiert, wie es uns insbesondere J. Munk und Rosenstein[1]) bewiesen haben, aber doch nur in geringerem Grade als die leicht schmelzbaren. Diese Frage ist für unsere Versuche bedeutungslos. Um so mehr müssen wir in Betracht ziehen, wie sich die Acidität unserer Fette zu ihrer Resorptionsstärke verhält. Bekanntlich nimmt man an, daß Neutralfett als solches überhaupt nicht resorbiert wird. Wenn es tatsächlich aufgenommen wird, so geschieht dies nur, weil es in der Regel durch die Fermente gespalten wird. Auch die Resorption von Neutralfett am pankreaslosen Hund, die uns Abelmann[2]) gezeigt hat, kommt nur durch vorherige Spaltung des Fettes zustande. Abelmann nahm seinerzeit eine Bakterienwirkung an; nach neueren Versuchen dürften fettspaltende Fermente die Veranlassung sein. Die Schwerresorbierbarkeit des Neutralfettes besteht übrigens auch für die Pflanzen; auch hier genügt nach den Untersuchungen von J. Schmidt[3]) bereits ein kleiner Zusatz von freier Fettsäure, um die Resorption zu beschleunigen.

Wir geben die Resultate unserer Versuche an Hund I und Hund II in den nebenstehenden Tabellen S. 125f. wieder. Die Versuche sind dabei alle in gleichmäßiger Weise wie die oben beschriebenen mit Seife angestellt worden. Auch die Bestimmung des wiedergewonnenen Fettes nach der Soxhletschen Methode geschah in der gleichen Weise. Zur Herstellung der Emulsionen benutzten wir anfänglich 30, später 50 ccm einer 0,4% Sodalösung. Es sei noch einmal darauf hingewiesen, worauf wir bereits an anderer Stelle aufmerksam gemacht haben, daß bei Hund I neben der Resorption auch die Sekretion beobachtet werden konnte, da während des Versuches Flüssigkeit regelmäßig abfloß und zwar so, daß wir in der Lage waren, das Exkret noch einmal durch den Darm durchgehen zu lassen. Bei den folgenden Hunden wurde das nicht resorbierte Fett in der Fistel so lange zurückgehalten, daß es zum großen Teil erst beim Durchspülen abfloß.

Der für die Versuche an Hund I benutzte Lebertran hatte eine Acidität von 14,6%, der für die Versuche an Hund II

[1]) Virchows Archiv 123, S. 230 u. 284.

[2]) Abelmann, Inauguraldissertation, Dorpat 1890.

[3]) Flora, 1890, zitiert nach Friedenthal: Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1902, S. 149.

verwendete war sogenannter gereinigter Lebertran mit einer Acidität von 6,09%. Vom Olivenöl haben wir keine Aciditätsbestimmung gemacht. Die Versuche an Hund II sind mehrere Monate nach denen an Hund I angestellt mit dem gleichen Olivenöl, das in der Zwischenzeit im Laboratorium, zeitweise in offener Flasche gestanden hatte. Das Lipanin hatte bei Hund I eine Acidität von 6,9%, bei Hund II von 8,5%. Die auf Tabelle XXII angegebenen Versuche wurden mit einem sehr reinen Olivenöl angestellt, das eine Acidität von 1,79% hatte.

Zur besseren Übersicht geben wir die Durchschnittswerte unserer Resorptionsversuche zugleich mit der Angabe der Acidität der genommenen Fette in den Tabellen XXXIVa und b wieder.

Tabelle X.

(Hund I, obere Fistel; Lebertran.)

Lebertran g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,021	30	0,404	39,57
0,833	30	0,375	45,02
1,073	30	0,467	43,71
			i. M. 42,77

Tabelle XXIX.

(Hund I, obere Fistel; gew. Olivenöl.)

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,353	30	0,295	21,80
1,429	30	0,450	31,49
			i. M. 26,645

Tabelle XII.

(Hund I, obere Fistel; Lipanin.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,085	50	0,085	7,84
1,443	50	0,155	10,78
1,818	50	0,0945	5,2
			i. M. 7,94

Tabelle XV.
(Hund I, obere Fistel; Milch.)

Milch ccm	Fettgehalt d. Milch g	Resorbiertes Fett g	Resorption %
60	0,978	0,097	9,92
60	1,538	0,183	11,9
			i. M. 10,91

Tabelle XXX.
(Hund II, obere Fistel; gereinigter Lebertran.)

Lebertran g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,767	50	0,246	13,12
1,481	50	0,348	23,5
			i. M. 18,71

Tabelle XXXI.
(Hund II, obere Fistel; gew. Olivenöl.)

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,352	50	0,89	61,32
1,5235	50	0,6975	45,78
			i. M. 53,55

Tabelle XXXII.
(Hund II, obere Fistel; reines Olivenöl.)

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,532	50	0,272	17,75
1,2245	50	0,198	16,17
1,291	50	0,119	9,22
1,1395	50	0,170	14,93
1,545	50	0,447	28,93
			i. M. 17,40

Tabelle XXXIII.
(Hund II, obere Fistel; Lipanin.)

Lipanin g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,131	50	0,076	6,72
1,468	50	0,095	6,47
			i. M. 6,6

Tabelle XXXIVa.

(Hund I. Mittelwerte).

	Resorption %	Acidität[1]) %
Ranziger Lebertran .	42,77	14,6
Lipanin	7,94	6,9
Olivenöl (ranzig) . .	26,645	?

Tabelle XXXIVb.

(Hund II. Mittelwerte).

	Resorption %	Acidität %
Gereinigter Lebertran	18,71	6,09
Olivenöl (ranzig) . .	53,55	?
Olivenöl (rein) . . .	17,40	1,79
Lipanin	6,6	8,58

Die Versuche gaben über die Frage der Acidität keinen klaren Überblick. Wir säuerten infolgedessen unser reines Olivenöl mit Ölsäure an bis zu einer Acidität von 10,5%. Bei einem so angestellten Versuch sank entgegen unserer Erwartung die Resorption auf 13,36%. Bei einem analogen Versuch, bei dem wir noch mehr Ölsäure hinzufügten, bis die Acidität 15,57% betrug, wurden sogar nur 6,4% resorbiert.

Die Resorbierbarkeit der Fette ist also nicht allein von ihrer Acidität abhängig. Damit ist noch nicht gesagt, daß die Emulgierbarkeit der Fette nicht in einem Zusammenhang zu ihrer Fähigkeit vom Darm aufgesogen zu werden steht. Wir wissen zwar bereits seit Brücke, daß ranziges Fett besonders gut resorbiert wird. Gad[2]) hat uns aber in seinen bekannten Untersuchungen gezeigt, daß noch andere Momente neben dem Vorhandensein freier Fettsäuren in Betracht kommen. Insbesondere hat er gefunden, daß die Emulgierbarkeit verschiedener Fette bei Berührung mit derselben Flüssigkeit auch noch abhängig ist von der Löslichkeit der aus den Säuren des Fettes gebildeten Seifen in der betreffenden Flüssigkeit und ferner von der Zähflüssigkeit des Fettes. Für unsere Resultate von besonderem Interesse ist es, daß Gad gerade beim Lebertran einen auffallend hohen Grad von Emulgierbarkeit gefunden hat. Ein von ihm untersuchtes Klauenfett von nahezu dem gleichen Säuregrad wie der von ihm benutzte Lebertran gab nur unter viel enger begrenzten Bedingungen gute Emulsion. Wir haben gerade bei unserem ranzigen Lebertran eine besonders gute Resorption gefunden.

[1]) Auf Ölsäure berechnet.

[2]) Arch. f. (Anat. und) Physiol. 1878, 187.

Wir sind zurzeit mit der Fortsetzung unserer Versuche mit verschiedenen Ölemulsionen beschäftigt. Wir wollen dabei suchen die Frage zu entscheiden, ob neben der Acidität an sich die Art der vorhandenen Säure bedeutungsvoll ist.

Die wenigsten Autoren, die sich mit der Fettresorption befassen, sind der Frage näher getreten, ob in allen Darmabschnitten gleichmäßig Fett resorbiert wird. Die meisten nehmen stillschweigend an, daß der obere Dünndarmabschnitt der alleinige oder wenigstens der hauptsächlichste Sitz der Fettverdauung sei. Hercher zieht bei dem Vergleich seiner Resultate nicht in Betracht, wie weit vom Magen entfernt die von ihm benutzten Dünndarmschlingen waren, und berechnet das Resultat auf den ganzen Darm. Diejenigen, die sich mit der Frage beschäftigt haben, leugnen eine Fettresorption von seiten der unteren Darmabschnitte. So hat Nagano, der seine Versuche beim Menschen an einer Fistel des unteren Dünndarms angestellt, die nach Art der Vellafistel angelegt war, ein negatives Resultat erhalten. Sonst waren uns bis zum Abschluß unserer Versuche keine bekannt, die sich mit der Fettresorption im unteren Teil des Dünndarms beschäftigen. In neuester Zeit hat allerdings London[1]) bei einem seiner Versuchshunde eine besonders gute Fettresorption im Ileum gefunden.[2]) Über den Dickdarm existieren Arbeiten zumeist von Klinikern, denen es darauf ankam, festzustellen, ob Fett bei Nährklystieren durch den Dickdarm aufgesogen werde. Hier kommen die meisten zu dem Resultat, daß Fett in Emulsion in geringer Menge aufgesogen wird. Eingehender vom physiologischen Standpunkt mit der Frage hat sich H. J. Hamburger[3]) befaßt, der dabei zu dem sehr merkwürdigen Resultat kommt, daß der Dickdarm Fett in außerordentlich großer Menge, und zwar am besten in Seifenform als Sapo medicatus resorbiert.

Wir hielten es infolge der unzureichenden Beobachtungen am unteren Teil des Dünndarms für notwendig, Versuche an diesem Abschnitt anzustellen. Die Versuche werden analog den früheren am oberen Abschnitte gemacht, der Darmabschnitt ist, wie oben erwähnt, ebenfalls 60 cm lang und reicht nach unten bis fast zum Blinddarm. Zunächst seien Versuche mit reinem Olivenöl und mit Milch aufgeführt, die an Hund IV (Tabelle XXXV, XXXVIIa und XXXVIIb) und Hund V (Tabelle XXXVI) angestellt wurden.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 60.

[2]) Inzwischen hat noch Kaorie Omi unter Röhmanns Leitung die Resorption im Jejunum und Ileum verglichen und für Zucker im ersteren besser, für ClNa und Pepton besser gefunden. (Pflügers Archiv 126, S. 451.)

[3]) Arch. f. (Anat. und) Physiol. 1900, 433.

Tabelle XXXV.

(Hund IV, untere Fistel; reines Olivenöl.)

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,492	50	0,723	48,46
1,728	50	0,751	43,46
1,4155	50	0,4125	29,14
1,795	50	0,9445	52,62
1,780	50	0,9805	55,08
			i. M. 45,75

Tabelle XXXVI.

(Hund V, untere Fistel; reines Olivenöl.

Olivenöl g	Sodalösung 0,4% ccm	Resorbiertes Fett g	Resorption %
1,798	50	0,775	43,10
1,326	50	0,5315	40,08
			i. M. 41,59

Tabelle XXXVIIa.

(Hund IV, untere Fistel; Milch).

Milch ccm	Fettgehalt g	Resorbiertes Fett g	Resorption %
50	0,74	0,1955	26,42
50	2,21	0,982	44,44

Tabelle XXXVIIb.

(Hund IV, untere Fistel; Milch.)

Milch ccm	Fettgehalt g	Resorbiertes Fett g	Resorption %
50	1,795	0,6705	37,35
50	1,795	0,786	43,79
			i. M. 40,57

Tabelle XXXVIIc.

(Hund V, untere Fistel; Milch.)

Milch ccm	Fettgehalt g	Resorbiertes Fett g	Resorption %
100	3,085	1,5245	49,417

Vergleichen wir diese Resultate der Ölversuche mit denen mit gleichem Öl an dem Hunde mit oberer Dünndarmfistel angestellten, woselbst 17,4% resorbiert wurden, so ist hier erheblich mehr aufgesogen. Auch die Versuche mit Milch zeigen dasselbe Ergebnis. In Tabelle XXXVIIa differieren die Versuche allerdings sehr untereinander, insbesondere auch im Fettgehalt der Milch. Es wurde daher der Fettgehalt an drei weiteren Versuchen (Tabelle XXXVIIb und c) nach der Gerberschen Methode bestimmt. Er betrug hier 3,59% bei Hund IV und 3,085% bei Hund V.

Da im oberen Teil des Dünndarms von der Milch nur 10,91% resorbiert wurden, wird also auch die Milch im unteren Teil des Dünndarms bedeutend besser resorbiert als im oberen.

Es wurden nunmehr einige Versuche an Hund IV und Hund V mit Sapo medicatus gemacht, die, wie erinnerlich, im oberen Teil des Dünndarms überhaupt nicht resorbiert wurde. Sie sind in den Tabellen XXXVIII bis XLIII wiedergegeben.

Tabelle XXXVIII.
(Hund IV, untere Fistel; Sapo medicatus.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Wasser ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
0,356	0,334	50	0,089	26,64
0,56	0,526	50	0,1435	27,28
0,324	0,304	50	0,0875	28,79
				i. M. 27,57

Tabelle XXXIX.
(Hund V, untere Fistel; Sapo medicatus.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Wasser ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
0,424	0,367	50	0,138	37,60
0,5535	0,479	50	0,123	25,68
				i. M. 31,64

Tabelle XL.
(Hund V, untere Fistel; Sapo medicatus, größere Mengen.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Wasser ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
1,1105	0,962	100	0,136	14,14

Tabelle XLI.

(Hund V, untere Fistel; Neutralseife.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Wasser ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
0,439	0,238	50	0,154	64,7
0,3685	0,200	50	0,109	54,50
				i. M. 59,6

Tabelle XLII.

(Hund V, untere Fistel; größere Menge Neutralseife.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Wasser ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
0,8375	0,454	50	0,063	13,87

Tabelle XLIII.

(Hund V, untere Fistel; größere Menge Neutralseife und Wasser.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Wasser ccm	Resorbiertes Fett g	Ergebnis %
1,109	0,601	100	0,183	30,45
1,332	0,722	100	0,257	35,60
				i. M. 33,025

Versuch, Tabelle XL, unterscheidet sich von den vorhergehenden dadurch, daß hier 100 ccm Wasser genommen werden. Die in den Tabellen XLI bis XLIII angeführten Versuche sind mit einer uns von Herrn Dr. Stiefel zur Verfügung gestellten neutralen Seife angestellt. Da die zuerst verwendete Fettmenge sehr gering ist, wird ein Versuch mit einer größeren Quantität Seife gemacht (Tabelle XLII). Bei diesem entsteht aber eine starke Reizwirkung, der Hund hat anscheinend viel Schmerzen und ist sehr unruhig; der Versuch ist deshalb nicht als vollgültig anzusehen. Daher werden für die folgenden Versuche (Tabelle XLIII) 100 ccm Wasser genommen, um so bei einem hohen Fettgehalt eine geringere Konzentration zu haben. Die Resultate zeigen, daß im unteren Teil des Dünndarms Seifen in bedeutender Menge resorbiert werden, und zwar besteht bei den verschiedenen von uns benutzten Seifen kein großer Unterschied. Es zeigt sich aber, daß dort, wo wir einen

größeren Wassergehalt genommen haben, die Resorption geringer ist.

Im Anschluß hieran werden einige Versuche an Hund IV und Hund V gemacht mit einer Emulsion von Olivenöl in Seife, die derartig hergestellt wird, daß zu einer in gewohnter Weise in Wasser gelösten Seife Olivenöl tropfenweise zugetan wird, soweit dasselbe sich noch emulgiert. Die Versuche sind in den Tabellen XLIV bis XLVII wiedergegeben.

Bei der Berechnung des Prozentgehaltes haben wir die wiedergewonnene Fettsäure als nicht resorbierte Seife, das erhaltene Neutralfett als nicht resorbiertes Olivenöl betrachtet, obgleich uns wohl bekannt ist, daß das nicht vollkommen korrekt ist.

Tabelle XLIV.

(Hund IV, untere Fistel; Mischung von Olivenöl und Sapo medicatus.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Olivenöl	Gesamtfettmenge g	Wasser ccm	Wiedergewonnenes Fett g	Resorbiertes Fett g
0,2212	0,1984	20 Tropf. = 0,5857 g	0,784	50	0,356 0,116 } 0,472	0,312
0,3885	0,349		0,935	50	0,457 0,1715 } 0,6285	0,3065

Gesamtergebnis %	Resorbiertes Neutralfett %	Resorbierte Fettsäure %
39,79	39.18	47.56
32,78	32,78	55,86

Tabelle XLV.

(Hund IV, untere Fistel; Mischung von Sapo medicatus und Olivenöl; größere Menge Seife.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Olivenöl	Gesamtfettmenge g	Wasser ccm	Wiedergewonnenes Fett g	Resorbiertes Fett g
0,4767	0,428	20 Tropf. = 0,5857 g	1,0137	100	0,1475 0,1682 0,3157	0,698
0,381	0,342		0,9277	100	0,223 0,1385 0,3615	0,5662

Gesamtergebnis %	Resorbiertes Neutralfett %	Resorbierte Fettsäure %
68,85	74,81	60,70
61,03	61,93	59,50

Tabelle XLVI.

(Hund V, untere Fistel: Mischung von Olivenöl und Sapo medicatus.)

Sapo medicatus g	Ätherextrakt der Seife g	Olivenöl	Gesamtfettmenge g	Wasser ccm	Wiedergewonnenes Fett g	Resorbiertes Fett g
0,5785	0,505	ca. 40 Tropf. 1,181 g	1,686	50	1,231 0,228 1,459	0,227
0,444	0,385	1,290 g	1,675	50	1,201 0,290 1,491	0,184

Gesamtergebnis %	Resorbiertes Neutralfett %	Resorbierte Fettsäure %
13,46	—	54,85
10,985	—	24,68

Tabelle XLVII.

(Hund V, untere Fistel; Mischung von Olivenöl und Sapo medicatus; geringere Menge Olivenöl.)

Sapo medicatus g	Fettgehalt der Seife g	Olivenöl g	Gesamtfettmenge g	Wasser ccm	Wiedergewonnenes Fett g	Resorbiertes Fett g
0,323	0,280	0,6	0,880	50	0,258 0,175 } 0,433	0,447
0,399	0,335	0,602	0,935	50	0,474 0,187 } 0,661	0,274
0,6835	0,566	0,6	1,166	50	0,673 0,354 } 1,027	0,139
0,4025	0,348	0,6	0,948	50	0,568 0,211 } 0,779	0,169

Gesamtergebnis %	Resorbiertes Neutralfett %	Resorbierte Fettsäure %
50,79	57,00	34,5
29,30	21,26	44,18
11,91	—	37,46
17,83	5,33	39,37

In den Versuchen, Tabelle XLVII, nahmen wir weniger Olivenöl, da wir der Annahme waren, daß der Mißerfolg in der Resorption des Olivenöls auf die zu große Quantität des Öls zurückzuführen war, das aufrahmte.

Für die Versuche, Tabelle XLV, waren größere Seifenmengen und dementsprechend mehr Wasser genommen.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß bei der Mischung von Olivenöl und Seife eine gute Resorption beider stattfindet, wenn auch die Resultate an Hund V nicht so exorbitant hohe sind wie bei Hund IV. Es macht den Eindruck, als ob es ganz bestimmter Mischungen bedarf, um die hohe Resorption zu erzielen. Es spielt sicher dabei auch die Konzentration eine große Rolle, da gerade in dem Versuch Tabelle XLV, in dem mehr Wasser genommen wurde, besonders viel resorbiert wurde.

Wir haben weiter oben über den Einfluß der Salzsäure auf die Darmsekretion und des weiteren auf die Resorption berichtet. Es lag nahe und war auch für unsere Versuche nicht ohne Belang, den Einfluß von Alkali auf die Sekretion kennen zu lernen. Unsere diesbezüglichen Versuche hatten folgende Resultate:

Bei Versuch I fließen nach Eingießen einer 268,944 mg Soda enthaltenden Lösung 227,482 mg aus = 84,57%.

Bei Versuch II fließen nach Eingießen einer 280,15 mg Soda enthaltenden Lösung 173,693 mg aus = 62,04%.

Bei einem dritten Versuch wird eine geringere Menge Sodalösung genommen. Es werden 123,266 mg Soda eingeführt. Bei einer Prüfung der ausgeschiedenen Flüssigkeit ergibt sich, daß dieselbe vollkommen neutral reagiert. Bei Wiederholung dieses Versuchs stellt sich sogar heraus, daß die ausgeschiedene Flüssigkeit sauer reagiert. 10 ccm der Flüssigkeit gebrauchen zur Neutralisation 0,11 ccm einer Lauge, die 1,12% Na_2CO_3 enthält.

Durch diesen Befund veranlaßt werden Bestimmungen über die Alkalescenz des Darmsaftes angestellt. Darüber, daß der Darmsaft alkalisch reagiert, herrscht bei allen Autoren Übereinstimmung, gleichviel ob sie ihre Untersuchung an Tieren oder, wie z. B. Demant, an Kranken mit Dünndarmfistel angestellt haben, gleichviel, welche Methoden sie zur Gewinnung des Darmsaftes benutzten. Und zwar enthält ebenfalls nach den ziemlich übereinstimmenden Angaben der Autoren der Darmsaft etwa 0,5% Kochsalz und etwa ebensoviel Natriumcarbonat, so daß er eine ausgeprägte, alkalische Reaktion besitzt, welche wohl geeignet ist, die saure Reaktion des aus dem Magen kommenden Speisebreies, des sog.

Chymus, nicht nur abzustumpfen, sondern auch in eine alkalische zu verwandeln.

Gumilewski fand im Durchschnitt 0,44 g Natriumcarbonat auf 100 ccm Flüssigkeit; es entsprechen daher 7,5 ccm $^n/_{10}$-Schwefelsäure genau 9,02 ccm Darmsaft. Wir selbst injizierten zur Prüfung der Reaktion dem nüchternen Fistelhunde 0,05 g Pilocarpin subcutan. Schon nach 2 Minuten tritt heftiger Speichelfluß und mäßiger Abfluß von Darmsaft auf. Vor dem Versuch hatten wir physiologische Kochsalzlösung durch die Fistel gegossen. Von der nach der Pilocarpininjektion erhaltenen filtrierten Flüssigkeit entsprechen 100 ccm 11,206 mg Na_2CO_3. Bei einem zweiten Hunde wird auf analoge Weise die Alkalescenz bestimmt. Die Absonderung erfolgt hier nur sehr langsam und nur in dicken Stücken. Zur Alkalinitätsbestimmung wird daher in der Weise verfahren, daß die gesamte Menge gewogen wird, sodann in Wasser aufgeschwemmt, filtriert und dann titriert. Dabei ergibt sich, daß 1,165 g Darmsaft 2,385 mg Soda entsprechen, d. s. auf 100 g Darmsaft 205 mg Na_2CO_3. Also hat der Darmsaft in unserem Falle zwar alkalisch reagiert aber wesentlich schwächer, als Gumilewski gefunden hat.

Die Differenz der verschiedenen Beobachter bezüglich der Alkalescenz erklärt sich wohl dadurch, daß wir nicht imstande sind, den Darmsaft vollkommen rein zu erhalten, sondern immer nur mit Schleim der Darmwand vermengt und durch die Resorption modifiziert. Pawlow hat durch seine Versuche nachgewiesen, daß der Magensaft von den Labdrüsen stets mit der gleichen Acidität bereitet wird. Die beinahe täglichen Schwankungen, die von Klinikern und Physiologen beobachtet sind, beruhen auf der verschiedenen Beimengung des alkalischen Schleims und des verschluckten Speichels; je stärker die Sekretion, um so größer die Acidität, da hier eine relativ geringere Beimengung mit Schleim stattfindet. So wird sich wohl auch die Differenz der Beobachter, die die Alkalescenz des Darmsaftes bestimmt haben, durch die verschiedene Größe der Schleimbeimengung erklären.

Als wichtigstes Ergebnis unserer Versuche dürfen wir wohl die Erkenntnis bezeichnen, daß die verschiedenen Abschnitte des Dünndarms sich nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ verschieden bei der Fettresorption verhalten. — Nur der untere Abschnitt resorbiert Seifen. Galle und Bauchspeichel beseitigen die Unfähigkeit des oberen Darmabschnittes für Seifenresorption nicht.

Emulgierte Neutralfette werden von allen Teilen des Dünndarmes, reichlicher aber vom unteren Dünndarm resorbiert; die Resorption wird sowohl durch vorangegangene Einwirkung verdünnter Salzsäure als auch durch Pankreas und Galle befördert. Die Resorption wechselt bis zu einer gewissen Grenze mit dem

Gehalte des Fettes an freien Säuren, doch scheint neben der Menge der Säure auch die Natur derselben und des Fettes die Resorptionsgröße zu beeinflussen.

Die Erkenntnis, daß Darmabschnitte, welche emulgiertes Fett resorbieren, von Seifen gar nichts aufnehmen, erscheint für die Theorie der Fettresorption bedeutungsvoll.

Über den Einfluß vergorener Zuckerlösungen auf die Atmung der Weizenkeime.

Von

S. Kostytschew.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 4. November 1909.)

In einer früher publizierten Abhandlung habe ich dargetan,[1]) daß die bei Darstellung des Weizenmehles gewonnenen und aus Mühlen zu erhaltenden Weizenkeime ein für das Studium des Chemismus des Atmungsprozesses sehr geeignetes Material darstellen, da verschiedene in Wasser gelöste Substanzen von den Weizenkeimen auffallend schnell resorbiert und eventuell auch veratmet werden. Vergleicht man nun die Atmungsenergie der in Wasser und in verschiedenen Lösungen eingeweichten Keime, so ergibt sich, daß die Atmung der Keime durch Zuckergabe stark gesteigert wird; das aus verschiedenen Aminosäuren und Albumosen (Peptiden?) bestehende käufliche „Pepton"-Präparat übt dagegen keinen Einfluß auf die Atmung der Weizenkeime aus. Hieraus ist ersichtlich, daß Zucker im Atmungsprozesse der Keime direkt verarbeitet wird. Von dem Gedanken ausgehend, daß die mit der anaeroben Atmung vieler Pflanzen, und auch mit derjenigen der Weizenkeime identische Alkoholgärung eine Vorstufe der physiologischen Zuckeroxydation sei, habe ich angenommen, daß Zwischenprodukte der Alkoholgärung leicht oxydierbare Stoffe vorstellen, die bei Sauerstoffatmung weiter verarbeitet werden. Die in dieser Richtung angestellten Versuche ergaben tatsächlich, daß, obschon Äthylalkohol selbst von Weizenkeimen nicht oxydiert wird, dennoch

[1]) Kostytschew, diese Zeitschrift 15, 164, 1908.

die durch Zymin vergorenen Zuckerlösungen, die bereits keine Reaktion mit Fehlingscher Lösung aufweisen, eine stark stimulierende Wirkung auf die Atmung der Weizenkeime ausüben: die Atmungsenergie der in vergorenen Zuckerlösungen eingeweichten Keime war noch größer als diejenige der Weizenkeime unter Zuckergabe.

Nun fragt es sich, welcher Herkunft ist der unter dem Einflusse der vergorenen Zuckerlösungen produzierte CO_2-Überschuß? Die Zwischenprodukte der Alkoholgärung könnten durch Weizenkeime auf zweierlei Arten verarbeitet werden: erstens ist obige Annahme eines Oxydationsprozesses wohl naheliegend; zweitens ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die genannten intermediären Gärungsprodukte von den Oxydasen unangreifbar sind und also trotz Anwesenheit oxydierender Faktoren und reichlichem Sauerstoffzutritt durch die Gärungsenzyme der Weizenkeime zu Kohlensäure und Alkohol vergoren werden, was ebenfalls eine Steigung der CO_2-Produktion zur Folge haben muß. Diese Frage war durch meine obigen Untersuchungen nicht beantwortet. Im folgenden will ich die Resultate einiger Versuche mitteilen, die den Einfluß vergorener Zuckerlösungen auf die Atmung der Weizenkeime ausführlicher erläutern.

Die zum Einweichen der Keime benutzten vergorenen Zuckerlösungen wurden immer auf folgende Weise erhalten: zu einer Lösung von 10 g Traubenzucker (Kahlbaum) und 4 g Natriumphosphat in 75 ccm destilliertem Wasser wurden 25 g Zymin gegeben und das Gemisch 3 bis 4 Tage ruhig stehen gelassen. Nach Ablauf dieser Zeit war die Gärung immer abgeschlossen, und eine Probe der filtrierten und enteiweißten Flüssigkeit gab keine Reaktion mit Fehlingscher Lösung.[1]) Das Zymin wurde abfiltriert und mit 125 ccm destilliertem Wasser ausgewaschen, das sauer reagierende Filtrat mit dem Waschwasser vereinigt, mit verdünnter Kalilauge genau neutralisiert und von Alkohol und anderen flüchtigen Stoffen durch Destillation befreit. Es wurden immer etwa 100 ccm abdestilliert. Besondere Rücksicht ist darauf zu nehmen, daß die Reaktion der Flüssigkeit vollkommen neutral ist. Sauer reagierende Lösungen bewirken nicht nur keine Steigerung, sondern im

[1]) Ohne Zusatz von Natriumphosphat wird meistens eine totale Vergärung des Zuckers nicht erzielt.

Gegenteil eine Hemmung der CO_2-Produktion der Weizenkeime, da letztere gegen saure Reaktion außerordentlich empfindlich sind. Infolgedessen muß die Reaktion der Flüssigkeit nach der Destillation nochmals geprüft und die etwa (infolge Abspaltung der organisch gebundenen Phosphorsäure?) eingetretene saure Reaktion sofort abgestumpft werden.

In meinen früher publizierten Versuchen,[1]) die etwa vier Stunden dauerten, habe ich bei den in vergorenen Zuckerlösungen eingeweichten Keimen eine Zunahme der CO_2-Produktion um 50% wahrgenommen. In länger dauernden Versuchen tritt der Einfluß vergorener Zuckerlösungen noch schärfer hervor: im folgenden, 12 Stunden dauernden Versuche betrug die Zunahme der CO_2-Produktion 142%!

Von den beiden gleichen Portionen der lufttrockenen Weizenkeime (zu je 20 g) wurde Portion A im destillierten Wasser, Portion B aber in vergorener Zuckerlösung 1 Stunde eingeweicht; alsdann wurden beide Portionen abfiltriert und mit Hilfe des Josefpapiers in geräumigen U-Röhren locker verteilt. Durch die Röhren wurde im Verlaufe von 12 Stunden CO_2-freie und mit Wasserdampf gesättigte Luft geleitet. Die Bestimmungen der produzierten CO_2 wurden mittels Wägung der eingeschalteten Geißlerschen Apparate ausgeführt; zum Trocknen des Gases wurde Schwefelsäure angewendet.

Portion A (Wasser) . . . . . $CO_2 = 123{,}6$ mg
Portion B (vergorene Zuckerlösung) . $CO_2 = 299{,}1$ „

Die Zunahme der CO_2-Produktion beträgt 142%.

Noch länger dauernde Versuche zu unternehmen hielt ich für nicht ratsam, da lebende Weizenkeime auch nach sorgfältigem Auswaschen von Bakterien schnell angegriffen werden.

In meiner oben zitierten Mitteilung habe ich den Einfluß einiger Bestandteile der durch Zymin vergorenen Zuckerlösungen auf die Atmung der Weizenkeime geprüft und hierbei gefunden, daß eine Beförderung der CO_2-Produktion der Weizenkeime nur durch die von Harden und Young[2]) und von Iwanoff[3]) aufgefundene esterartige Phosphorsäureverbindung bewirkt wird; doch war die von mir in den allerdings sehr kurz dauernden Versuchen ermittelte Zunahme der CO_2-Produktion zu gering, um etwaige Schlußfolgerungen zu gestatten. Jetzt wären aber die genannten Versuche unter länger dauernder Luftdurchleitung

[1]) l. c.
[2]) Harden und Young, Proc. of the physiol. soc., Nov. 1904.
[3]) L. Iwanoff, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 281, 1906.

zu wiederholen, zumal da die fragliche Substanz den neueren Auseinandersetzungen Iwanoffs zufolge[1]) ein intermediäres Gärungsprodukt sein soll. Es ist aber kaum zweifelhaft, daß die stimulierende Wirkung der vergorenen Zuckerlösungen auf die Atmung der Weizenkeime nicht einzig und allein durch die genannte phosphororganische Substanz bewirkt wird: dies ist daraus ersichtlich, daß meine vergorenen Zuckerlösungen CuO nicht reduzierten und also keine Spur der fraglichen Substanz enthielten; letztere gibt bekanntlich eine intensive Reaktion mit Fehlingscher Lösung.

Die Frage, ob der unter dem Einflusse der vergorenen Lösungen produzierte CO_2-Überschuß durch Steigerung der normalen Atmung oder der Alkoholgärung der Weizenkeime entsteht, kann offenbar nur durch direkte Alkoholbestimmungen beantwortet werden. Im folgenden Versuche wurden neben den CO_2-Bestimmungen auch Alkoholbestimmungen ausgeführt.

Von den beiden gleichen Portionen der lufttrockenen Weizenkeime zu je 20 g wurde Portion A im destillierten Wasser, Portion B aber in vergorener Zuckerlösung $1^1/_2$ Stunden eingeweicht. Dann wurden beide Portionen abfiltriert und mit Hilfe des Josefpapiers in geräumigen U-Röhren locker verteilt. Durch die Röhren wurde alsdann im Verlaufe von 9 Stunden CO_2-freie und mit Wasserdampf gesättigte Luft geleitet. Hinter die U-Röhren wurden die in der vorhergehenden Mitteilung[2]) beschriebenen Kühler eingeschaltet. Die CO_2-Bestimmungen wurden nach derselben Methode ausgeführt wie im vorstehenden Versuche. Nach Beendigung des Versuches wurde eine jede Portion der Keime mit dem Inhalte des entsprechenden Kühlers vereinigt, mit destilliertem Wasser versetzt und destilliert. Die erhaltenen Destillate wurden dann durch wiederholte Destillationen eingeengt und zu den Alkoholbestimmungen verwendet. Betreffs der Einzelheiten der Alkoholbestimmungen verweise ich auf meine schon mehrfach zitierte Abhandlung.[2])

Der Versuch ergab folgende Resultate:

CO_2-Bestimmungen.

Portion A (Wasser) . . . . . $CO_2 = 175{,}0$ mg

Portion B (vergorene Zuckerlösung) . $CO_2 = 313{,}1$ „

Alkoholbestimmungen.

Portion A (Wasser). Spez. Gewicht des Destillates 0,99972.

Portion B (verg. Zuckerlösung) Spez. Gew. des Destillates 0,99964.

Bereits früher haben Palladin und ich[3]) nachgewiesen, daß bei der Atmung der Weizenkeime Stoffe entstehen, die eine durch schweflige

[1]) L. Iwanoff, Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 24, 1909.

[2]) Kostytschew, l. c.

[3]) Palladin u. Kostytschew, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 214, 1906.

Säure entfärbte Fuchsinlösung rotviolett färben; diese Reaktion wurde auch mit den im vorliegenden Versuche erhaltenen Destillaten geliefert. Die Reinigung der Destillate geschah durch Destillation unter Zusatz von Natriumbisulfit. Das erhaltene Destillat wurde mit Barytwasser bis zur ausgesprochen alkalischen Reaktion versetzt und wiederum überdestilliert. Das spezifische Gewicht der auf diese Weise gereinigten Destillate war 0,9999; Jodoformreaktion nach Müntz[1]) sehr schwach. Es war also in beiden Destillaten eine nur ganz unbedeutende und ungefähr gleiche Menge Alkohol vorhanden; letzterer hat sich wahrscheinlich beim Einweichen der Keime gebildet. Die Zunahme der CO_2-Produktion der in vergorener Zuckerlösung eingeweichten Keime betrug aber 138 mg.

Dieser Versuch zeigt, daß die gesteigerte CO_2-Produktion der in vergorener Zuckerlösung eingeweichten Keime ohne Alkoholbildung stattgefunden hat und also auf die normale Atmung zurückzuführen ist. Hierdurch wird die Annahme bestätigt, daß intermediäre Gärungsprodukte bei der Sauerstoffatmung verarbeitet werden. Aus folgendem ist aber ersichtlich, daß die Sauerstoffabsorption der in vergorenen Zuckerlösungen eingeweichten Keime weniger stark gesteigert wird als die Kohlensäureproduktion: das Verhältnis $\frac{CO_2}{O_2}$ der so behandelten Keime ist etwas größer als dasjenige der in Wasser oder in nicht vergorenen Zuckerlösungen eingeweichten Keime.

Drei Portionen der Weizenkeime wurden 2 Stunden in folgenden Flüssigkeiten eingeweicht. Portion A in destilliertem Wasser, Portion B in 5%iger Traubenzuckerlösung, Portion C in vergorener Zuckerlösung. Die so behandelten Keime wurden mit Hilfe des Josefpapiers in den zur Entnahme der Gasproben angepaßten Kolben locker verteilt und luftdicht eingesperrt. Nach Ablauf von 1 Stunde wurden Gasproben entnommen und im Apparate von Polowzow-Richter analysiert. Die Analysen ergaben folgende Resultate:

Portion A (Wasser).

$CO_2 = 4.62\%$, $O_2 = 15{,}81\%$, $N_2 = 79{,}57\%$.

$$\frac{CO_2}{O_2} = 0{,}91.$$

Portion B (5% ige Traubenzuckerlösung).

$CO_2 = 4{,}86\%$, $O_2 = 16{,}32\%$, $N_2 = 78{,}82\%$.

$$\frac{CO_2}{O_2} = 1{,}11.$$

Portion C (vergorene Traubenzuckerlösung).

$CO_2 = 5{,}42\%$, $O_2 = 16{,}88\%$, $N_2 = 77{,}70\%$.

$$\frac{CO_2}{O_2} = 1{,}53.$$

[1]) Müntz, Annales de chimie et de physique, Sér. V, 13, 543, 1878.

Die Resultate obiger Versuche bestätigen also die in der vorhergehenden Abhandlung beschriebenen. Vergorene Zuckerlösungen bewirken eine starke Steigerung der CO_2-Produktion der Weizenkeime bei Luftzutritt; da hierbei kein Alkohol gebildet wird, so ist die Zunahme der CO_2-Produktion nicht auf Alkoholgärung, sondern auf normale Atmung zurückzuführen. Diese Ergebnisse sprechen zugunsten der Voraussetzung, daß intermediäre Produkte der Alkoholgärung im Prozesse der Sauerstoffatmung verarbeitet werden; die im Pflanzenreiche so allgemein verbreitete Zymase ist also höchstwahrscheinlich am Atmungsprozesse direkt beteiligt; ein einwandfreier Nachweis dieser Hypothese könnte erbracht werden, wenn es gelänge zu zeigen, daß die Zunahme der CO_2-Produktion der in vergorenen Zuckerlösungen eingeweichten Keime nicht auf Reizwirkung, sondern auf Verarbeitung eines sehr geeigneten Atmungsmaterials zurückzuführen ist.

Über den Nachweis von Fluorwasserstoff neben Fluorsalzen.

Von

W. Cronheim.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule zu Berlin.)

Der Nachweis von Fluorsalzen durch die Ätzmethode nach dem von Hefelmann[1]) ausgearbeiteten Verfahren ist sehr leicht und sicher zu führen. So vermochte ich noch Fluor in einer Menge von 1:800000 sicher nachzuweisen. Allerdings gehört eine gewisse Übung dazu, da bei Spuren die Ätzung erst nach dem Anhauchen wahrzunehmen ist. Nun wird man immer, auch bei einem blinden Versuch, nach Beseitigen des Wachses bei richtiger Belichtung Spuren der Schriftzüge wahrnehmen, selbst wenn man sie nur mit einem weichen Gegenstand, etwa mit einem Hölzchen, eingetragen hat, so daß ein mechanisches Ritzen sicher ausgeschlossen ist. Vielleicht verursacht es die Zusammensetzung des Glases, daß schon durch einfache Einwirkung der heißen Dämpfe ein Hauchbild entsteht. Handelt es sich um solche matten Bilder, so gibt die Dauer ihres Bestehens einen Anhaltspunkt, um zu sehen, ob eine Ätzung vorliegt. In diesem Falle ist nämlich auch eine Spur noch später sichtbar, während andere Bilder nach einigen Tagen verschwunden sind. Um die durch die Zusammensetzung der Uhrgläser verursachte scheinbare Einwirkung möglichst auszuschließen, benutze ich solche aus Jenenser Glas.

Neuerdings wird vielfach Fluorwasserstoff an Stelle seiner Salze benutzt, da er eine erheblich stärkere antiseptische Kraft besitzt, auch Eiweiß- und Pektinstoffe abscheidet, unter Umständen also noch klärend wirkt. Durch Zusatz von Kalk soll dann

[1]) Pharmac. Ztg. 1895, 249.

der Fluorwasserstoff ausgefällt werden; es handelt sich nun darum, nachzuweisen, ob nach dieser Fällung noch freier Fluorwasserstoff vorhanden ist. Da bei den in Betracht kommenden Körpern die Kalkmenge nur so bemessen wird, daß gerade der Fluorwasserstoff neutralisiert wird, nicht aber etwa vorhandene Säuren der Substanz, so muß man nach dem Massenwirkungsgesetz Spuren freien Fluorwasserstoffes erwarten, selbst wenn ein geringer Überschuß von Kalk zugefügt wird.

Der Nachweis des Fluorwasserstoffes gestaltet sich sehr leicht, wenn man über einen Destillationsapparat aus Platin verfügt. Höchstens daß sich Schwierigkeiten ergeben durch etwaiges Schäumen bei der Destillation. Jedenfalls findet sich vorhandener Fluorwasserstoff, ev. auch organisch gebundenes Fluor, das beim Erhitzen frei wird, im Destillat. Derartige Gerätschaften sind wohl meistens nur im Besitze großer Institute. Als an mich die Entscheidung der oben erwähnten Aufgabe Nachweis von Fluorwasserstoff neben Fluorsalzen herantrat, suchte ich neben der Destillation noch nach einem anderen Wege. Dieser fand sich in der Unlöslichkeit der Fluorsalze in Äther und Alkohol. Versetzt man die betreffende Lösung mit Alkohol (95%) in reichem Überschuß, so bildet sich ein Niederschlag, dessen Abscheidung man durch Zufügen eines ebenfalls großen Überschusses von Äther begünstigt. Wie besondere Versuche zeigten, wird Fluorsalz auf diese Weise quantitativ ausgefällt, Flußsäure bleibt in Lösung, organisch gebundenes Fluor höchstwahrscheinlich auch. Man läßt den Niederschlag in der Kälte absitzen, filtriert nach 1tägigem Stehen ab und macht das Filtrat mit Kalk- oder Barytwasser alkalisch. Nach mehrstündigem Absitzen sammelt man dann den gebildeten Niederschlag auf einem Filter, verascht und prüft mittels der Ätzmethode. Auf diese Weise konnte in wässeriger Lösung, wie in reinem Fruchtsaft auch noch Fluorwasserstoff 1:800000 nachgewiesen werden. Vergleichende Versuche zeigten, daß bei Vorhandensein sehr geringer Mengen Flußsäure dieselben Proben gleich starke Ätzung gaben, einerlei ob das Destillat untersucht wurde oder ob der Fluorwasserstoff nach Behandlung mit Äther-Alkohol als Salz abgeschieden wurde.

Selbstverständlich ist auch auf diese Weise freie Flußsäure von Verbindungen, die Fluor organisch gebunden enthalten.

nicht zu unterscheiden. Das Auftreten derartiger Körper würde nicht verwundern und ließe sich ohne weiteres durch Anlagerung von Fluorwasserstoff an ungesättigte Verbindungen erklären.

Der naheliegende Versuch, Fluorwasserstoff durch Ausschütteln mit Äther zu isolieren, ist nicht so einfach durchzufühen. Einmal stehen dem die bekannten Schwierigkeiten gegenüber, durch Ausschütteln eine geringe Menge eines Körpers aus einem größeren Flüssigkeitsquantum zu isolieren. Doch ließe sich dies durch Verwendung eines Extraktionsapparates etwa nach Hagemann[1]) oder nach Zelmanovitz[2]) wohl erzielen. Dagegen stört die beispielsweise in Fruchtsäften auftretende Emulsion außerordentlich und macht jedesmal ein Stunden umfassendes Stehenlassen, Zufügen von immer neuen Mengen Wassers zum Äther und anderes mehr notwendig, so daß die oben angegebene Methode sich mehr empfiehlt.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1893, 1975.

[2]) Diese Zeitschr. 1, 253, 1906.

Über das Bindungsvermögen der Stromata.

Erwiderung an R. Muir: Über die Hitzebeständigkeit der Blutkörperchenreceptoren.

Von

J. Forssman.

(Aus dem pathologischen Institut der Universität Lund, Schweden.)

(Eingegangen am 5. November 1909.)

In einer in dieser Zeitschrift publizierten Mitteilung[1]), auf die ich hier bez. der näheren Details verweise, habe ich unter anderem folgendes nachgewiesen: 1. Die Fähigkeit der Blutkörperchenstromata, zusammen mit entsprechendem hämolytischem Immunserum Komplement zu fixieren, ist nicht nur von den im Serum befindlichen hämolytischen Amboceptoren, sondern auch von anderen im Serum vorkommenden Immunsubstanzen abhängig; 2. werden die Stromata 2 bis 3 Minuten auf 100° erwärmt, so verschwindet das Vermögen der Stromata, mittels der hämolytischen Amboceptoren Komplement zu fixieren, oder wenn man es anders ausdrücken will, die Receptoren der Stromata für die hämolytischen Amboceptoren werden durch diese Behandlung zerstört, während die Einwirkung der Stromata auf die Komplementfixierung hierdurch im übrigen nicht geschädigt wird; und 3. das Vermögen der Stromata, Komplement zu fixieren, wechselt stark bei verschiedenen Stromata derselben Art, auch wenn sie auf genau dieselbe Weise bereitet worden sind.

Unter diesen Verhältnissen ist es augenscheinlich unmöglich, bei Mischung von Stromata, Immunserum und Komplement allein durch die Komplementfixierung sich eine Vor-

[1]) Forssman, Das Bindungsvermögen der Stromata. Diese Zeitschr. 15.

stellung über die Menge der in den Stromata befindlichen Receptoren für die hämolytischen Amboceptoren zu machen, da das Komplement in einer solchen Mischung von den Stromata nicht nur durch die hämolytischen Amboceptoren, sondern auch durch andere im Serum vorkommenden Immunsubstanzen fixiert wird, und da man, soweit meine Erfahrung geht, niemals voraussagen kann, wieviel Komplement auf die eine oder andere Weise gebunden wird.

Weil Muir und Fergusson[1]) die eben genannte Methode zum Nachweise hämolytischer Receptoren der Stromata angewandt haben, erklärte ich in meinem Aufsatze, daß ihre Untersuchungen, soweit sie die Menge der bei den Stromata vorkommenden hämolytischen Receptoren betreffen, ohne Bedeutung wären, was bei den vorausgeschickten Prämissen auch der Fall sein muß. Kürzlich hat nun Muir[2]) das Wort ergriffen, um meine Kritik über die Muir-Fergussonsche Arbeit zu entkräften, aber es zeigt sich, daß Muir meine Arbeit und meine Kritik ganz mißverstanden hat, indem er mir Äußerungen zuschreibt, die ich nie getan habe, und sich bemüht, diese zu widerlegen. Ich kann natürlich nicht verantwortlich gemacht werden für Dinge, die ich weder gesagt noch gedacht habe, da ich mich aber vielleicht zu kurz gefaßt habe, so möchte ich doch, um weitere Mißverständnisse zu verhindern, die Angelegenheit ein wenig aufklären.

Muir sagt (S. 510): „Forssman gibt an, daß das Komplement von den Stromata allein[3]) ebenso absorbiert wird wie unter dem Einfluß des Immunkörpers", und um meine vermutliche Anschauung besser zu illustrieren, führt Muir „einen analogen Fall" an (S. 511): „Bakteriensuspensionen absorbieren Komplement an und für sich;[1]) nach Zugabe des homologen Immunkörpers wird aber die Menge des gebundenen Komplements ganz beträchtlich erhöht."

Jenen mir zugeschriebenen Satz habe ich nie geäußert, wohl aber das Gegenteil gesagt (S. 27, 28 meiner Arbeit); ich habe überhaupt nirgendwo davon gesprochen, was Stromata allein oder an und für sich von Komplement absorbieren und meine ganze Untersuchung wurde ausgeführt, um zu zeigen, in welcher Weise das Komplement in Anwesenheit von Immunserum durch Stromata fixiert wird.

[1]) Muir und Fergusson, On the hemolytic receptors of the red corpuscles. Journ. of pathol. u. bact. 2.

[2]) Muir, Über die Hitzebeständigkeit der Blutkörperchenreceptoren. Diese Zeitschr. 21.

[3]) Sperrdruck von mir.

Da ich z. B. (S. 22) der Bordetschen Schlußfolgerung betreffs der Komplementfixierung durch Stromata entgegentrete, tue ich dies, wie jedermann in meiner Arbeit sehen kann, nicht wegen Bordets Äußerung, daß Stromata nicht ohne Immunserum Komplement fixieren, sondern wegen der letzteren Hälfte des folgenden Passus Bordets: „Les stromas absorbent alexine en presence de sensibilatrice, tandis qu'ils ne la fixent pas lorsque cette dernière substance est absente", wodurch Bordet, wie aus seiner Abhandlung hervorgeht, sagen will, daß die Stromata nur mittels des Sensibilators Alexine fixieren können. Hiergegen hebe ich nämlich hervor, daß aus dem Bordetschen Versuche nur so viel deutlich ist (S. 22), „daß Immunserum für die Komplementfixierung notwendig ist, aber ob die Wirkung des Immunserums hier von Sensibilatoren oder von anderen Immunsubstanzen abhänge, darüber erhält man aus diesem (Bordetschen) Versuche keine Auskunft". Gerade um diese Frage zu entscheiden, setzt meine Arbeit ein.

Da ich, wie diese Problemstellung sowie alle in meiner Arbeit angeführten Versuche und die daraus gezogenen Schlußfolgerungen (S. 27 und 28) zeigen, meine Untersuchung ausschließlich dem Studium der Komplementfixation durch Stromata in Anwesenheit spezifischer hämolytischer Sera gewidmet habe, so habe ich auch mit wenigen Ausnahmen immer in diesem Punkte die Worte Komplementbindung und Komplementfixierung (s. z. B. die Diskussion der Versuche S. 27, 28) angewandt. Diese Worte bezeichnen ja nämlich dem wissenschaftlichen Sprachgebrauche gemäß Komplementresorption bei Anwendung spezifischer Sera (z. B. das Wort Komplementfixierung bei der Wassermannschen Syphilisreaktion), während derjenige Prozeß, an welchen Muir denkt und von welchem er irrtümlicherweise glaubt, daß ich ihn untersucht habe, Adsorption benannt wird. Der Adsorption der Stromata von Komplement ist aber in meiner Arbeit gar keine Erwähnung geschehen, da sie, wie Muir auch selbst findet, ganz unbeträchtlich oder kaum wahrnehmbar ist. Hätte ich aber geahnt, daß die genannten Bezeichnungen dieser verschiedenen Prozesse nicht allgemein verständlich wären, hätte ich gewiß meine Ausdrücke so gewählt, daß solche Mißverständnisse wie die vorliegenden, welche ich sehr bedaure, vermieden worden wären. Von dieser unrichtigen Auffassung betreffs meiner Arbeit ausgehend, verteidigt jetzt Muir die Untersuchung von Muir und Fergusson gegen meine Kritik, ohne aber, wie ich gezeigt habe, meine Kritik verstanden zu haben, und darum auch ohne meine Kritik widerlegen zu können.

Ich bin überzeugt, daß, wenn Muir nach diesen Kommentaren die Untersuchung nochmals aufnimmt, alle meine Versuchsergebnisse bestätigen wird und daß er dann auch finden wird, daß mein Urteil über die umstrittene Methode von Muir und Fergusson zutreffend ist.

Als ich bei dieser Gelegenheit meine Arbeit nochmals durchmusterte, fand ich einen Passus, der unrichtig formuliert ist. Es ist die folgende Äußerung anläßlich des Versuches, den ich

gemacht habe, um die Bordetschen Stromataversuche zu kontrollieren. Ich sage da (S. 24): „Aus diesem Versuch ist klar, daß auch in dieser ursprünglichen Bordetschen Kombination von Stromata, Blut und Sera das Komplement von den Stromata ohne Mitwirkung des hämolytischen Amboceptors gebunden wird", was besser so lautet: Aus diesem Versuche ist klar, daß auch in dieser ursprünglichen Kombination von Stromata, Blut und Sera Komplement von den Stromata auch ohne Mitwirkung usw.

Es ist allerdings wahr, daß diejenige Auffassung, welche aus der ersten Formulierung vielleicht entstehen könnte, als ob der hämolytische Amboceptor gar keine Rolle für die Komplementfixierung spiele, keine Widerlegung braucht; denn aus dem Zusammenhang ist deutlich zu ersehen, daß ich eine solche Auffassung nicht habe, sondern nur hervorzuheben wünsche, daß ich die Bedeutung auch anderer Immunsubstanzen als der hämolytischen Amboceptoren für die Komplementbindung bei den Stromataversuchen bewiesen habe, und daß ja übrigens Komplementbindung durch die hämolytischen Amboceptoren von jedem, der sich mit diesen Fragen beschäftigt hat, konstatiert und anerkannt ist. Aber ich möchte doch die Gelegenheit benutzen, es zu korrigieren, um dadurch vielleicht Mißverständnisse und unnötige Diskussion zu vermeiden.

Über die Rolle des Sauerstoffs bei der Eiweißbildung in den Pflanzen.

Vorläufige Mitteilung.

Von

W. Zaleski.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1909.)

Ich habe schon längst gezeigt,[1]) daß nach der Verwundung der Zwiebeln von Allium Cepa eine sehr lebhafte Eiweißbildung in diesen vor sich geht. Für diese Eiweißsynthese ist aber die Sauerstoffanwesenheit eine notwendige Bedingung, da sich in sauerstofffreier Atmosphäre keine Eiweißvermehrung in verwundeten Zwiebeln beobachten läßt, wie aus folgenden Versuchen zu ersehen ist:

		Kontroll-zwiebel	Verwundete Zwiebel gewöhnl. Luft	Verwundete Zwiebel Wasserstoff
Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N	(Versuch I)	32,0%	49,4%	32,0%
	(Versuch II)	48,3 „	57,2 „	48,8 „

Meine Untersuchungen wurden darauf durch Versuche von Kowschoff[2]) bestätigt.

Chemische Untersuchungen über Eiweißstoffe, sowie Beobachtungen über den Eiweißaufbau in den reifenden Samen[3]) sprechen deutlich genug zugunsten der Annahme, daß die Eiweißsynthese aus Aminosäuren ihrer chemischen Natur nach einen Anhydrotationsprozeß darstellt. In diesem Prozesse kann also Sauerstoff keine direkte Rolle spielen.

---

[1]) W. Zaleski, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißbildung in den Pflanzen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 19, 1901.

[2]) Kowschoff, Rév. gén. de Botan. 14, 1902.

[3]) W. Zaleski, Beiträge zur Kenntnis der Eiweißbildung in reifenden Samen. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 23, 1905. — Wassilieff, Eiweißbildung in reifenden Samen. Ibid. 26, 1908.

Die Rolle des Sauerstoffs bei der Eiweißbildung in den verwundeten Zwiebeln ist jetzt verständlich. Nach dem Zerschneiden der Zwiebel beobachten wir eine lebhafte Steigerung der Atmungsintensität, welche aber nur bei Sauerstoffanwesenheit stattfindet. Auf diese Weise steht also den verwundeten Zwiebeln eine gewisse Menge der Energie zur Verfügung, welche für die Eiweißbildung verbraucht werden kann. Da die Atmung der verwundeten Zwiebel in einer Wasserstoffumgebung[1]) keine Steigerung erfährt, so geht keine Eiweißzunahme in diesen in sauerstofffreier Atmosphäre vor sich.

Die Zwiebeln sind zu unseren Versuchen wenig geeignet, da die Eiweißsynthese während der Keimung nur langsam und noch weit langsamer während der Ruheperiode[2]) derselben vorschreitet. Die Zwiebeln können aber nicht so lange die Sauerstoffabwesenheit vertragen.

Weit geeigneter zu diesen Versuchen sind die reifenden Samen, da sie auch ohne Verwundung sehr lebhaft und rasch Eiweißstoffe bilden[3]), wenn sie sich in trockener Luft befinden. Außerdem verfügen die reifenden Samen unter normalen Bedingungen über eine gewisse Menge von Sauerstoff.

Unsere Versuche wurden mit reifenden Erbsensamen ausgeführt.

Es wurde ein Quantum der Hülsen ausgelesen und jeder Hülse drei gleichartige Samen entnommen, welche dann in drei Portionen von gleicher Samenanzahl und gleichem Frischgewicht geteilt wurden.

Die Samen einer jeden Portion wurden halbiert, um das Austrocknen derselben und auf diese Weise die Eiweißbildung in diesen zu beschleunigen. Es wurde damit bezweckt, durch Beförderung des Austrocknens das Absterben im sauerstofffreien Medium zu umgehen. Dann wurde eine dieser Portionen in trockene Luft, die andere in eine sauerstofffreie trockene Atmosphäre gebracht und die dritte bei 60 bis 70° getrocknet. Der Versuch dauerte 4 bis 5 Tage und wurde natürlich im Dunkeln angestellt. Es ist auch selbstverständiich, daß alle Versuche möglichst steril ausgeführt wurden. Nach beendetem Versuche wurden auch Versuchsportionen bei 60 bis 70° getrocknet.

Dann bestimmte man im getrockneten Versuchsmaterial den Stickstoff der nach Stutzers Verfahren ausgefällten Eiweißstoffe und den Gesamtstickstoff nach Kjeldahl. Der Eiweißstickstoff ist in Prozenten

[1]) Smirnoff, Influence des Blessures sur la respiration... Rev. gén. de Botan. 15, 1903.

[2]) W. Zaleski, l. c. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 19, 1901.

[3]) W. Zaleski, l. c. Ber. d. Deutsch. botan. Ges. 23, 1905.

des Gesamtstickstoffs berechnet. Außerdem wurde die absolute Menge des Gesamtstickstoffs der Portionen bestimmt, um zu zeigen, daß in der sauerstofffreien Atmosphäre kein Stickstoffverlust stattfand.

1. Versuch.

Versuchsdauer 5 Tage.

	Kontroll-portion	Gewöhnl. Luft	Sauerstoff-freie Atmosph.
Gesamt-N der ganzen Portion . . .	0,2306	0,2324	0,23,14
Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N	82,3%	87,7%	85,0%

2. Versuch.

Versuchsdauer 4 Tage.

	Kontroll-portion	Gewöhnl. Luft	Sauerstoff-freie Atmosph.
Gesamt-N der Portionen	0,2208	0,2214	0,2200
Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N	71,9%	85,4%	77,2%

3. Versuch.

Versuchsdauer 5 Tage.

	Kontroll-portion	Gewöhnl. Luft	sauerstoff-freie Atmosph.
Gesamt-N der Portionen	0,2205	0,2201	0,2218
Eiweiß-N in Prozenten des Gesamt-N	71,4%	85,0%	77,8%

In sauerstofffreier Atmosphäre findet also kein Stickstoffverlust statt. Wir sehen weiter, daß ohne Sauerstoffzutritt in reifenden Samen eine Eiweißsynthese vor sich geht. Bei Sauerstoffgegenwart bilden die reifenden Samen fast die doppelte Menge des Eiweißstickstoffs im Vergleich zur sauerstofffreien Atmosphäre. Es ist sehr möglich, daß dieses Resultat durch die weit geringere Quantität der Energie, über welche die Samen während der Anaerobiose verfügen können, bedingt wird. Außerdem wird wahrscheinlich die Eiweißzunahme in sauerstofffreier Atmosphäre bald sistiert, da die Samen ohne Sauerstoffzutritt allmählich abzusterben beginnen. Zugunsten dieser Annahme sprechen einige Versuche, über die ich später zu berichten gedenke.

Wir können also sagen, daß der Sauerstoff keine direkte Rolle bei dem Eiweißbildungsprozeß aus Aminosäuren selbst in den Pflanzen spielt. Wenn daher ohne Sauerstoffgegenwart keine Eiweißbildung in den Pflanzen vor sich geht, so erklärt es sich nach unseren Versuchen in der Weise, daß er in diesen Fällen indirekt wirkt, da ziemlich alle Lebensprozesse der grünen Pflanze von der Anwesenheit des Sauerstoffs abhängen.

Über den quantitativen Nachweis von Fermenten in den Faeces.

Von

Hans Ury.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 5. November 1909.)

Die Untersuchung der Faeces auf Fermente hat in neuerer Zeit ein ziemlich lebhaftes Interesse gefunden. Bisher haben nur ausgedehntere Untersuchungen auf Amylase und auf proteolytisches Ferment stattgefunden. Ich selbst habe vor kurzem in meiner Arbeit „Zur Theorie der Bitterwasserwirkung“[1]) Fermentuntersuchungen angestellt; dieselben betrafen insbesondere auch die Methodik des quantitativen Nachweises von Maltase und Invertin in den Faeces; es gelang mir, bei 24stündigem Stehenlassen im Brutschrank mäßige Mengen von Dünndarmsaft (Maltase, Invertin) in den dünnflüssigen Bitterwasserfaeces quantitativ nachzuweisen. Die bisher bestehenden Fermentuntersuchungen sind aber durchaus nicht lückenlos. Auf ein eventuelles Vorkommen von Lipase, Nuclease usw. in den Faeces ist bisher überhaupt nicht geachtet worden. Ich habe daher in den folgenden Mitteilungen die bisher vorhandenen Untersuchungen zu ergänzen gesucht; ich habe fernerhin auch das Vorkommen von Amylase, Trypsin und Pepsin in den Bereich meiner Untersuchung gezogen, indem ich mich dazu moderner Methoden bediente, die für die Faeces bisher noch nicht angewendet worden sind

[1]) Hans Ury, Zur Lehre von den Abführmitteln IV. Arch. f. Verd.-Krankh. 15, 235.

und welche eine ziemlich genaue quantitative Abmessung gestatten. Was speziell das Vorkommen von Pepsin anlangt, so ist bisher nur von Leo und Adolf Schmidt[1]) bei Darmstörungen (Diarrhöe) Pepsin nachgewiesen worden, jedoch betont Ad. Schmidt selbst, daß weitere Untersuchungen über diesen Punkt sehr angebracht wären. Während die Untersuchungen auf Maltase und Invertin mit Aussicht auf Erfolg stattfinden konnten, war dies bei der Untersuchung auf Lactase nicht der Fall. Vor allem deswegen, weil es äußerst schwierig ist, die gebildeten kleinen Mengen von Dextrosazon und Galaktosazon neben den großen Mengen Lactosazon nachzuweisen. Die Methode von Orban[2]) verspricht hierbei wenig Erfolg. Es kommt ferner hinzu, daß nach den Angaben von Röhmann[3]) der Darmsaft gar nicht auf Milchzucker einwirkt (Dastre, Mendel, Abbot und Lusk, Nagano, Röhmann und Nagano). Die Schleimhaut aus dem oberen Teil des Dünndarmes vom erwachsenen Hunde spaltet den Milchzucker nur zuweilen und auch hier nur in sehr geringem Umfange; die Schleimhaut des unteren Teiles wirkt dagegen nicht oder fast gar nicht auf denselben ein. Im Gegensatz hierzu wird wie der Rohrzucker so auch die Maltose zum kleineren Teil durch ein vom Darm sezerniertes Ferment, zum größeren Teil durch die Darmschleimhaut selbst gespalten, nur ist die Menge der sezernierten Maltase besonders im Ileum verhältnismäßig größer als die des Invertins. Rohrzucker und Maltose werden also schon vor ihrer Resorption im Darmlumen in einem gewissen Umfang gespalten, der Milchzucker wird vor seiner Resorption nicht gespalten. Ich habe aus den angegebenen Gründen auf die Untersuchung auf Lactase von vornherein verzichtet.

Was die wichtigsten Untersuchungen seitens der bisherigen Autoren anlangt, so haben insbesondere von seiten Straßburgers[4]) Untersuchungen auf Amylase stattgefunden. Straßburger benutzte mit Vorteil die Bestimmung des sogenannten „achromic point" im Anschluß an die Diastasometrie von Kobert. Es wurde die gebrauchte Zeit be-

---

[1]) Zit. nach Adolf Schmidt, Die Faeces des Menschen. 3. Abschnitt. S. 203.

[2]) Orban, Prager med. Wochenschr. 1899, 427.

[3]) Röhmann und Nagano, Pflügers Archiv 95, 535.

[4]) Straßburger, Arch. f. klin. Med. 67, 241.

stimmt, welche innerhalb gewisser Grenzen umgekehrt proportional der Fermentmenge ist.[1]) Es wurden folgende interessanten Ergebnisse festgestellt: 1. Die Qualität der Nahrung hat unter normalen Verhältnissen keinen Einfluß auf die Menge der in den Faeces enthaltenen Amylase 2. Bei Diarrhöe ist die Quantität der Diastase in vielen Fällen erheblich vermehrt. 3. Für Obstipation gilt das Umgekehrte, aber in geringerem Grade. 4. Im Fieber ist die Faecesamylase in vielen Fällen verringert. 5. Der durchschnittliche Diastasegehalt, nach Kobert berechnet, war in 1 g frischen Faeces = 0,72 g, in 1 g Trockensubstanz = 3,39 g. 6. In keinem Falle wurde das diastatische Ferment vollkommen vermißt. 7. Die obligaten Kotbakterien produzieren keine Amylase. 8. Beim Erwachsenen kommt normalerweise das diastatische Ferment ausschließlich und ganz vorwiegend aus den unteren Partien des Dünndarms. — Bezüglich der Bestimmung des proteolytischen Ferments in den Faeces sind die Untersuchungen von Hemmeter[2]) und vor allem die von Müller und Schlecht[3]) zu erwähnen. Hemmeter stellte fest, daß Faecesextrakte von normalen, menschlichen Faeces trockenes, pulverisiertes Blutfibrin und Eieralbumin in einer alkalischen Lösung verdauen. Dasselbe Extrakt hat auch eine hervorragende amylolytische Wirkung. Das Filtrieren durch ein Pasteursches Filter macht die Extrakte steril, verändert aber den Fermentgehalt nicht. Die quantitativen Untersuchungen des proteolytischen Fermentes können, wie Straßburger mit Recht hervorhebt, nicht als einwandfrei bezeichnet werden.

Müller und Schlecht haben zum Zwecke des Nachweises von proteolytischem Pankreasferment Blutserumplatten benutzt, d. h. Petrischalen, die eine ziemlich dicke Schicht erstarrten Blutserums enthalten. Wird diese Serumplatte mit kleinen Tröpfchen der mit Glycerinwasser verriebenen normalen Faeces beschickt und auf einige Zeit bei 50 bis 60° in den Brutschrank gebracht, so zeigen sich bald an Stelle jedes Tröpfchens kleine, flache Dellen auf der Serumplatte. Weder Bakterienwirkung noch proteolytisches Leukocytenferment können eine proteolytische Pankreasfermentwirkung vortäuschen. Das proteolytische Leukocytenferment höchstens dann, wenn der Stuhl in größerer Menge Eiter enthält; bei Gegenwart von reichlichem Blut käme ferner das in dem Blutserum enthaltene Antitrypsin als störend in Betracht. Wenn man dem Patienten nach Einnahme einer Probemahlzeit (bestehend aus 150 g Fleisch und 150 g Kartoffelbrei) 0,2 bis 0,3 g Calomel oder 0,5 g Purgen verabreicht, so erfolgen nach 2 bis 4 Stunden dünnflüssige Stühle; Proben hiervon auf die Serumplatte gebracht, erzeugen tiefe Löcher auf der Serumplatte. Nach den Verfassern läßt sich durch ein Verdünnungs-

---

[1]) Bezüglich der genaueren Berechnung und weiteren Einzelheiten ist die Originalarbeit einzusehen.

[2]) Hemmeter, Pflügers Archiv 81, 152.

[3]) E. Müller, Arch. f. klin. Med. 92, 1908. — H. Schlecht, Münch. med. Wochenschr. 1908, Nr. 14.

verfahren auch eine quantitative Schätzung des Gehaltes an proteolytischem Ferment ermöglichen.[1])

Bei den Untersuchungen über diesen Gegenstand habe ich mich bei meinen Trypsinuntersuchungen wie bei meinen Pepsinbestimmungen der Volhardtschen Methode bedient. Gerade für die Faeces erscheint mir diese Methode außerordentlich geeignet, da sie sehr exakte Feststellungen gestattet. Irgendwelche bakteriellen Trübungen, wie sie entschieden (natürlich nur bei den Faeces) die Anwendung der Fuld-Großschen Methode erschweren können, kommen hierbei als störend nicht in Betracht. Die Methode ist auch, wenn man einmal die Caseinstammlösung hergestellt hat, durchaus nicht als umständlich zu bezeichnen. Die Methodik und die Vorschriften Volhardts sind in der Arbeit[2]) „Über eine Untersuchung des Pankreassaftes beim Menschen und eine Methode der quantitativen Trypsinbestimmung" ausführlich dargelegt. Das Erepsin[3]) wirkt freilich ebenso wie das tryptische Pankreasferment auf die Caseinlösung verdauend ein; aber einerseits ist das Erepsin[3]) in der Hauptsache in der Darmschleimhaut enthalten und höchstens in Spuren in dem Darmsaft, andererseits habe ich die Befunde durch Untersuchungen auf das amylolytische Pankreasferment sowie auf Maltase und Invertin des Darmsaftes ergänzt. Zur Untersuchung auf das diastatische Ferment des Pankreas benutzte ich die von Wohlgemuth[4]) angegebene Methode, über welche in der ausführlichen Arbeit des Autors nachzulesen ist; hat das bekannte Jodstärkeverfahren zu einer quantitativen und schnell ausführbaren Methode ausgebaut.

---

[1]) Vgl. Ed. Müller und Schlecht, Med. Klinik 1909, Nr. 16 u. 17, sowie ferner Heinrich Schlecht, Centralbl. f. inn. Med. 1909, Nr. 6. Inzwischen sind auch von seiten anderer Autoren Arbeiten über das proteolytische Ferment in den Faeces erschienen, welche vorzugsweise die Groß-Fuldsche Methode anwandten, so von Doeblin, Deutsche med. Wochenschr. 1908, Nr. 25; Oscar Groß, ebenda 1909, Nr. 16; G. Goldschmidt, ebenda 1909, Nr. 12.

[2]) Münch. med. Wochensch. 1907, Nr. 9.

[3]) Diese ev. Fehler teilt die Volhardtschen Methode mit der Fuld-Großschen Methode.

[4]) Über eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des diastatischen Fermentes. Diese Zeitschr. 9, 1. Heft.

Die von mir angewandte Methode zur quantitativen Bestimmung der Maltase, des Invertins und der Lipase sowie zur qualitativen Bestimmung der Nuclease findet sich im 1. und 2. Versuch genau dargestellt.

1. Versuch vom 22. X. 08.

N. Normale Faeces. Ges. Acid. 113,2 g. Es wurden 79 g abgenommen, gründlichst mit toluolhaltigem, destilliertem Wasser auf das Volumen 800 ccm verrieben und filtriert. Der Rest der Faeces = 34,2 g wird auf dem Wasserbad getrocknet. Lufttrocken = 12,3 g.

Der Stickstoffgehalt der lufttrockenen Faeces beträgt 5,2%. In 0,9999 g lufttrockenen Faeces sind enthalten 0,8518 g absolute Trockensubstanz.

10 ccm des wässerigen Filtrates binden 2,6 ccm $^n/_{10}$-S. (Kjeldahl).

In 10 ccm des wässerigen Filtrates sind enthalten 0,0454 g absolute Trockensubstanz.

In 113,2 g Ges. Faeces sind enthalten 2,1171 g N; in das wässerige Extrakt von 113,2 g gehen über 0,4172 g N = 19%.

In 113,2 g Faeces sind enthalten 40,713 lufttrockene Substanz (= 34,682 absolute Trockensubstanz), d. i.

64% Wasser,
36% lufttrockene Substanz.

In 113,2 g feuchter Faeces sind enthalten 34,682 absolute Trockensubstanz; in das wässerige Extrakt von 113,2 g gehen über 5,2044 g absolute Trockensubstanz = 15%.

Fermente.

Die Fermente wurden stets in abgemessenen Quantitäten des wässerigen Filtrates bestimmt. Da der quantitative Gehalt der Filtrate an Fermenten sich nach Verlauf von wenigen Tagen schon im Sinne einer Zunahme bzw. auch einer Abnahme ändern kann, so wurde stets möglichst schnell gearbeitet, so daß die Fermentbestimmungen schon nach Verlauf von 3 bis 4 Tagen beendigt waren. Ob es sich bei diesen Veränderungen um ev. Zerstörung von Antifermenten oder um Aktivierung von Profermenten handelte, war nicht zu übersehen. Die mit Toluol versetzten, häufig geschüttelten, wässerigen Filtrate wurden stets im Eisschrank aufbewahrt.

Diastatisches Ferment.

Es wurden in Anlehnung an die Vorschriften von Wohlgemuth 5 ccm einer 1%igen Stärkelösung mit aufsteigenden Mengen des wässerigen Faecesfiltrates beschickt, und zwar in der üblichen Weise in je 6 Reagensgläser mit 0,1 ccm (0,16, 0,25, 0,4, 0,64, 1 ccm) des wässerigen Filtrates. Nach Zusatz von Toluol und Umschütteln wurden die durch Korke verschlossenen Reagensgläser auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach Ablauf von 24 Stunden wurden sämtliche Reagensgläser bis 1 Finger breit vom Rande mit Wasser gefüllt, zu jedem Gläschen je 1 Tropfen einer $^n/_{10}$-Jodlösung zugesetzt und umgeschüttelt. Diejenigen Gläschen, die eine gelbe bis rotgelbe Farbe aufweisen, enthalten das Achroodextrin resp. Erythrodextrin; die mit einem Blauviolett enthalten ein Gemisch von Erythrodextrin einerseits und Stärke andererseits, und endlich die mit einer dunkelblauen Färbung vorwiegend unveränderte Stärke. Als unterste Grenze der Wirksamkeit (limes) bezeichnet Wohlgemuth dasjenige Gläschen, in dem zum erstenmal die blaue Farbe unverkennbar auftritt, das ist also das Gläschen, das die violette Farbe zeigt. In dem vorhergehenden Gläschen ist also sämtliche Stärke mindestens bis zum Dextrin abgebaut, und von diesem wurde in der Berechnung ausgegangen. So bauen in unserem Versuch 0,16 ccm Faecesfiltrat gerade 5 ccm bis zum Dextrin ab, d. h. in dem letzten, mit 0,1 ccm Faecesfiltrat versetzten Gläschen tritt nach Zusatz von Jod noch eine blauviolette Färbung ein, in dem vorletzten, mit 0,16 ccm Filtrat beschickt gewesenen Gläschen bereits eine Rotfärbung ohne Beimischung von Blau.

Es verdauen also 0,16 ccm des wässerigen Filtrates 5 ccm der Stärkelösung und

1 ccm des wässerigen Filtrates 31,25 ccm Stärkelösung.

800 ccm des wässerigen Filtrats = wässeriger Extrakt von 79 g Faeces = 25000 ccm Stärkelösung.

113,2 g Faeces = 34,682 g absolute Trockensubstanz = 38522 ccm Stärkelösung.

Auf 1 g absolute Trockensubstanz kommen also 1032,9 ccm Stärkelösung.

Fernerhin 113,2 g Faeces enthalten 2,1171 g N.

Auf 0,01 g N berechnet wurden also verdaut 169,2 ccm Stärkelösung.

Es wurden also die erlangten Resultate immer auf 1 g absolute Trockensubstanz sowie auf 0,01 g N umgerechnet, um die normalen Werte mit pathologischen vergleichen zu können.

Wenn auch in den mit 0,1 ccm versetzten Reagensgläschen alles verdaut war, so wurde das wässerige Filtrat um die Hälfte, den vierten Teil usw. verdünnt und dies bei der Berechnung berücksichtigt.

Trypsinbestimmung bzw. Pepsinbestimmung.

Zur Trypsinbestimmung wurden von der nach den Vorschriften von Volhardt hergestellten Caseinstammlösung in je 2 langhalsigen Flaschen, welche an der Flasche eine Marke 300 und am Halse eine Marke 400 tragen, je 100 ccm abgemessen, mit Chloroformwasser bis zur Marke 300 gefüllt und zu der einen 10 ccm Faecesfiltrat, zu der andern gar nichts bzw. 10 ccm gekochtes Faecesfiltrat zugefügt.[1]) Diese Flaschen wurden auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Darauf mißt man in jede Flasche aus der Bürette genau 11 ccm Normalsalzsäure ab und schüttelt, bis alles Casein wieder in Lösung gegangen ist. Dann fällt man das unverdaute Casein, indem man von einer 20%igen Natriumsulfatlösung ca. 100 ccm einlaufen läßt, schüttelt und stellt nach dem Erkalten mit der Natriumsulfatlösung genau[2]) auf die Marke 400 ein. Darauf wurde durch je ein trockenes Filter filtriert; und 50 bzw. 200 ccm Filtrat (Doppelbestimmung!) mit $^1/_{10}$ n S gegen Phenolphthalein titriert. Der Aciditätszuwachs der mit dem Faecesfiltrat beschickten Probe gegenüber der Probe, zu welcher kein Faecesfiltrat gesetzt worden war, ergibt das Maß der tryptischen Wirkung. Wenn man die 11 ccm Normalsalzsäure vor der Digestion dem Casein zugesetzt hatte, so erhielt man natürlich das Maß der peptischen Verdauung. Bei meinen Untersuchungen diente eine Flasche zum blinden Versuch, die zweite zur Feststellung der tryptischen Wirkung, in der dritten wurde auf das Vorhandensein von peptischem Ferment geprüft.

1. Peptisches Ferment: a) Im blinden Versuch (ohne Zusatz von 10 ccm Faecesfiltrat) in 200 ccm = 4,3 $^1/_2$ n S.

b) Mit Zusatz von 10 ccm Faecesfiltrat ebenfalls 4,3 $^1/_2$ n S.

Es ist also kein Pepsin vorhanden.

2. Tryptisches Ferment: a) Ohne Zusatz von Filtrat = 4,3 $^1/_2$ n S.

b) Mit Zusatz von 10 ccm Filtrat = 4,7 $^1/_2$ n S.

In 200 ccm Differenz = 0,4 $^1/_2$ n S.

In 400 ccm (bis dahin war aufgefüllt worden) = 0,8 $^1/_2$ n S.

Berechnung: Für 10 ccm Filtrat Differenz = 0,9 $^1/_2$ n S.

Für 800 ccm Filtrat = 32 n S.

Filtrat von 79 g Faeces = 32 n S.

Filtrat von 113,2 g Faeces = 34,682 g absolute Trockensubstanz = 45,853 n S.

Auf 100 g absolute Trockensubstanz = 132,21 n S.

Fernerhin: In 113,2 g Faeces sind enthalten 2,117 g N = 45,853 n S.

Auf 1 g N = $\frac{45{,}853}{2{,}117}$ = 21,659 n S.

---

[1]) Bei reichlichem Gehalt an proteolytischem Ferment gelingt es durch 3maliges Aufkochenlassen nicht, sämtliches Ferment mit Sicherheit zu zerstören.

[2]) Bei einer hierbei häufig störend wirkenden Schaumbildung setzt man etwas Äther hinzu und rührt vorsichtig mit einem kleinen Glasstab um.

Es wurden also zum Vergleich mit pathologischen Stühlen die erhaltenen Werte auf 100 g absolute Trockensubstanz einerseits und 1 g N andererseits umgerechnet, ebenso wie dieselben bei der Amylasebestimmung auf 1 g Trockensubstanz und 0,01 g N umgerechnet wurden.

Es fehlte also in den normalen Stühlen Pepsin; dagegen war Amylase sowohl als auch Trypsin (in geringen Mengen) vorhanden. Indem wir nach der Volhardtschen Methode für das Trypsin der normalen Faeces, wie auch die nachfolgenden Untersuchungen lehren, außerordentlich exakte quantitative Werte erhalten, ist es möglich, auch in pathologischen Stühlen vergleichende quantitative Trypsinbestimmungen anstellen zu können.

Quantitative Bestimmung von Maltose und Invertin.

1. Maltase. Es wurde 1 g Maltase gelöst in 50 ccm Wasser, dazu 10 ccm Faecesfiltrat. Die Drehung der Lösung (nach Entfärbung mit Bleizucker) beträgt 4,4%. Nach 24stündigem Stehen im Brutschrank hat die Drehung nicht abgenommen, es ist also keine Maltase vorhanden.

2. Invertin. 1 g Rohrzucker gelöst in 50 ccm Wasser, dazu 10 ccm Faecesfiltrat; Drehung beträgt 2,4%. Nach 24stündigem Stehenlassen unter Toluol im Brutschrank Drehung 2,2%. Lösung reduziert jetzt deutlich Kupfersulfat in alkalischer Lösung, während die Reduktion in der ursprünglichen Lösung natürlich ausbleibt. Bei Zusatz von 10 ccm gekochten Faecesfiltrats zu der 2%igen Rohrzuckerlösung bleibt die Drehung nach 24stündigem Stehen im Brutschrank unverändert, auch tritt keine Reduktion ein. Von der 24 Stunden im Brutschrank unter Toluolzusatz befindlich gewesenen, mit 10 ccm ungekochten Faecesfiltrates versetzten Rohrzuckerlösung wird eine Gelatinestichkultur angelegt; es gehen keine Kulturen auf; auch nicht nach 4tägigem Stehenlassen. Desgleichen gehen beim Ausgießen der geimpften Gelatine in eine sterile Petrischale keine Kolonien auf.

Durch den Toluolzusatz ist also die Lösung steril geworden, so daß bei der invertierenden Wirkung Bakterientätigkeit nicht in Betracht kommen kann.

Berechnung (Invertin): Für 10 ccm Faecesfiltrat Differenz 0,2. Für 800 ccm Faecesfiltrat = wässeriger Extrakt von 79 g Faeces = 16. In 113,2 = 34,682.

Auf 100 g Trockensubstanz = 66,106.

Auf 1 g Stickstoffsubstanz = 10,83.

2. Versuch vom 24. XI. 08.

N. Normale Faeces. Ges. Faeces = 101 g. Es werden 81 g mit Wasser auf das Volumen 800 ccm verrieben, filtriert. Der Rest der Faeces = 20 g wird getrocknet. Lufttrocken = 6,2 g.

Der Stickstoffgehalt der lufttrockenen Faeces beträgt 5,7%. In 1,4513 lufttrockenen Faeces sind enthalten 1,3384 absolute Trockensubstanz.

10 ccm der wässerigen Faeces (Kjeldahl) binden 2,6 ccm $^1/_{10}$n S.

In 10 ccm des wässerigen Filtrats sind enthalten 0,0494 g absolute Trockensubstanz.

In 101 g Ges. Faeces sind enthalten 1,8012 g N; in das wässerige Extrakt von 101 g gehen über 0,36309 g N = 20,2%.

In 101 g feuchten Faeces sind enthalten 31,31 g lufttrockene Substanz (= 28,874 g absolute Trockensubstanz), d. i.

30,82% lufttrockene Substanz,
69,18% Wasser
100

In 101 g feuchten Faeces sind enthalten 28,874 g absolute Trockensubstanz; in das wässerige Extrakt von 101 g gehen über 4,9278 g absolute Trockensubstanz = 17,1%.

Fermente im wässerigen Filtrat.

1. Diastase. Filtrat unverdünnt von 0,64 ab verdaut; von da ab unverdaut.

Berechnung: 0,64 ccm verdauen 5 ccm der Stärkelösung.

1 ccm verdauen $\frac{5}{0{,}64}$. 800 ccm = 5625.

800 ccm Filtrat von 81 g Faeces. In 101 g Faeces = 7013,7 ccm Stärkelösung.

101 g = 28,874 absolute Trockensubstanz. Auf 1 g Trockensubstanz also 242,91 Stärkelösung.

Fernerhin: In 101 g = 1,8012 g N.

Auf 0,01 g N also 38,939 Stärkelösung.

2. Pepsin. a) Ohne Zusatz von Filtrat in 200 ccm 4,3 $^1/_2$n S.

b) Mit Zusatz von 10 ccm Filtrat in 200 ccm 4,3 $^1/_2$n S.

Also kein Pepsin vorhanden.

3. Trypsin. a) Zusatz von 10 ccm gekochten Faecesfiltrats in 200 ccm . . 4,3 $^1/_2$n S.

b) Zusatz von 10 ccm ungekochten Faecesfiltrats in 200 ccm . . 4,9 $^1/_2$n S.

Differenz 0,6 $^1/_2$n S.

Berechnung: In 200 ccm = 0,6 $^1/_2$n S.

In 400 ccm = 0,6 n S.

In 10 ccm Filtrat = 0,6 n S.

In 800 ccm Filtrat = Extrakt von 81 g Faeces = 48 n S.
In 101 g (= 28,874 absolute Trockensubstanz) = 59,851 g n S.
In 100 g absolute Trockensubstanz = 207,28 n S.
Fernerhin: In 101 g sind enthalten 1,8012 g N.
Auf 1 g N also $\frac{59{,}851}{1{,}8012} = 33{,}228$ n S.

4. Maltase. Ursprüngliche Drehung = 3,6%.
Nach 24stündigem Stehenlassen im Brutschrank Drehung vollkommen unverändert, also keine Maltase vorhanden.

5. Invertin. 2%ige Rohrzuckerlösung + 10 ccm Faecesfiltrat. Reduziert nicht. Drehung = 2,0%.
Nach 24 Stunden deutliche Reduktion. Drehung = 1,8%.
Also es sind Spuren von Invertin vorhanden.

3. Versuch vom 10. XII. 08.

N. Normale Faeces. Ges. Faeces = 143,1 g. Es werden 82 g mit Wasser aufs Volumen 800 ccm verrieben, filtriert. 61,1 g Faeces werden getrocknet. Lufttrocken = 20,3 g. Der Stickstoffgehalt der lufttrockenen Faeces beträgt 6,8%. In 0,6804 g lufttrockenen Faeces sind enthalten 0,5651 g absolute Trockensubstanz.

10 ccm des wässerigen Filtrates (Kjeldahl) binden 2,6 ccm $^1/_{10}$ n S.
In 20 ccm des wässerigen Filtrates sind enthalten 0,0963 g absolute Trockensubstanz.
In 143,1 g feuchten Faeces sind enthalten 3,2329 g N. In das wässerige Extrakt von 143,1 g Faeces gehen über 0,50819 g N = 15,7%.
In 143,1 g feuchten Faeces sind enthalten 47,544 g lufttrockene Substanz = 39,488 absolute Trockensubstanz, d. i. 33,2% lufttrockene Subst.; $\frac{66{,}8\%\text{ Wasser}}{100}$

In 143,1 g feuchten Faeces sind enthalten 39,488 absolute Trockensubstanz. In das wässerige Extrakt von 143,1 g Faeces gehen über = 6,7223 g absolute Trockensubstanz = 17%.

Fermente (im wässerigen Filtrat).

1. Diastase: unverdünnt nach 24 Stunden, 0,1 nicht verdaut, von 0,16 ab alles verdaut.

Berechnung: 0,16 verdaut 5 ccm Stärkelösung
In 1 ccm = 31,5 „ „
In 800 ccm = 82 g Faeces = 25 200 „ „
„ 143,1 ccm = 43 977 „ „
„ 143,1 „ = 39,488 absolute Trockensubstanz.
Auf 1 g absolute Trockensubstanz = 1113,4 ccm Stärkelösung.
Fernerhin: In 143,1 sind enthalten 3,2329 g N.
Auf 0,01 g N = 136,03 Stärkelösung.

2. Pepsin: Es ist kein Pepsin vorhanden.

3. Trypsin: a) Zusatz von 10 ccm gekochten Faecesfiltrats.

In 50 ccm = 5,4 $^1/_{10}$ nS. In 200 ccm = 4,3 $^1/_2$ nS.

b) Bei Zusatz von 10 ccm ungekochten Filtrates:

In 50 ccm = 6,2 $^1/_{10}$ nS. In 200 ccm = 4,9 $^1/_2$ nS

Differenz = 0,6 $^1/_2$ nS.

Berechnung: 200 ccm entsprachen 0,6 $^1/_2$ nS

400 „ „ 0,6 $^1/_1$ „

10 ccm Filtrat „ 0,6 $^1/_1$ „

800 ccm Filtrat = 82 g Faeces „ 48 ccm „

143,1 „ „ „ 87,766 „

In 143,1 g sind enthalten 39,488 g absolute Trockensubstanz.

Auf 100 g absolute Trockensubstanz also = 212,13 n S.

Fernerhin: In 143,1 g feuchten Faeces sind enthalten 3,2329 g N.

In 1 g N = $\frac{87{,}766}{3{,}2329}$ = 25,91 nS.

4. Maltase: Keine Maltase vorhanden.

5. Invertin: a) 2%ige Rohrzuckerlösung 50 ccm + 10 ccm gekochten Faecesfiltrates. Reduziert nicht. Drehung 2,4%.

Nach 24 Stunden (Toluolzusatz) im Brutschrank. Drehung 2,4%. Keine Reduktion.

b) 2%ige Rohrzuckerlösung 50 ccm + 10 ccm ungekochten Faecesfiltrates. Reduziert nicht. Drehung 2,4%.

Nach 24 Stunden (Toluolzusatz) im Brutschrank: Starke Reduktion. Drehung 2,2%.

Es sind also Spuren von Invertin vorhanden.

6. Quantitative Bestimmung der Lipase. Zur Lipasebestimmung wurden ca. 2 g Butter teils mit 20 ccm gekochten, teils mit 20 ccm ungekochten Faecesfiltrates versetzt und nach Toluolzusatz im Brutschrank 24 Stunden aufbewahrt. Diese beiden Lösungen wurden, da sie viel zu dunkel waren, mit reichlich Wasser verdünnt und nach Phenolphthaleinzusatz mit wässeriger $^n/_{10}$-Natronlauge titriert. Es zeigte sich jedoch, daß wegen der immer noch starken Färbung eine exakte Titration nicht möglich war. Es mußte also anders vorgegangen werden.

Es wurden deswegen ca. 4 g Butter in Äther gelöst, von dem geringen Bodensatz abgegossen, die Lösung wurde genau in 2 Teile zerlegt, und es wurde in zwei weithalsigen Gefäßen der Äther der spontanen Verdunstung überlassen.[1]) Am

[1]) Die Butter enthält noch geringe Mengen von Fettsäuren; es ist nicht notwendig, die Säuren aus der Butter zu entfernen, da es sich nur um Vergleichswerte handelt. Will man die Fettsäuren durchaus entfernen, so wird die Butter in Äther gelöst, die klare Lösung mit verdünnter Sodalösung so lange geschüttelt, bis alle Säure entfernt ist, d. h.

nächsten Tag wurden nach vorsichtiger Erwärmung zu jedem Gefäß je 20 ccm teils gekochten, teils ungekochten Faecesfiltrates hinzugesetzt, mit einer Spur Sodalösung vorsichtig gegen Lackmus neutralisiert und nach Toluolzusatz auf 24 Stunden in den Brutschrank gestellt. Jede der Fettsuspensionen wurde nunmehr mit Äther 3mal ausgeschüttelt, der Äther nach Zusatz von etwas Alkohol in je einer großen Porzellanschale bis zum nächsten Tage in der Kälte verdunstet. Der alkoholische Rückstand wurde in ein Becherglas quantitativ mit etwas erwärmtem Alkohol übergespült, Zusatz von Wasser; es entsteht ein weißlicher, dichter Niederschlag. Die Titration mit Phenolphthalein gelingt jetzt leicht; die Differenz zwischen den beiden erhaltenen Aciditätswerten gibt den Grad der stattgefundenen Fettspaltung an.

Um zu sehen, ob die soeben angegebene Methode der Lipasebestimmung eine quantitative ist, wurden je 2 g Butter in 2 Bechergläschen geschmolzen, zu dem einen 0,1873 g Ölsäure, zu dem andern nichts zugesetzt, mit Äther 3mal ausgeschüttelt und in der soeben beschriebenen Weise weiter behandelt. Mit Phenolphthalein usw. titriert.

1. ohne Zusatz von Ölsäure 0,6 $^1/_{10}$ nS
2. mit „ „ „ 6,3 $^1/_{10}$ nS

Differenz 5,7 $^1/_{10}$ nS

Der theoretische Wert liegt etwas höher, so daß ein kleiner Verlust stattgefunden hat. Dessenungeachtet ist die Methode gut zu gebrauchen.

Es wurden fernerhin: a) 2 g Butter + 20 ccm gekochten Faecesfiltrates + Toluol, b) 2 g Butter + 20 ccm gekochten Faecesfiltrates + 0,5 g Pankreon + Toluol, 24 Stunden in den Brutschrank gestellt.

Weiterbehandlung in der üblichen Weise.

a) = 0,9 $^1/_{10}$ nS.

b) = 1,2 $^1/_{10}$ nS.

Das Pankreon bewirkt also nur eine schwache Fettspaltung.

Untersuchung auf Lipase in dem Faecesextrakt selbst.

a) Gekocht = 0,6 $^1/_{10}$ nS.

b) Ungekocht = 0,6 $^1/_{10}$ nS.

---

bis auf Zusatz einer kleinen Menge der ätherischen Lösung zu einer mit Rosolsäure und einer Spur $^n/_{10}$-Lauge versetzten alkoholischen Flüssigkeit keine Entfärbung mehr eintritt. Alsdann wird der Äther so lange mit Wasser geschüttelt, bis das Wasser keine alkalische Reaktion mehr zeigt, der Äther verdunstet.

Wiederholung:

a) Gekocht = 0,9 $^1/_{10}$ nS.

b) Ungekocht = 0,8 $^1/_{10}$ nS.

Es war also in den normalen Faeces keine Lipase enthalten.

Von den 24 Stunden unter Toluol in dem Brutschrank befindlich gewesenen Fettfaecesmischungen wurde auf eine Gelatineplatte abgeimpft, es gingen keine Kolonien auf; auch nicht nach ca. 4tägigem Stehenlassen.

4. Versuch vom 7. I. 09.

K. normale, feste Faeces. Ges. Faeces = 118,1 g. 80 g wurden mit Wasser aufs Volumen 800 ccm verrieben, filtriert. 38,1 g Faeces wurden getrocknet. Lufttrocken 12,2 g. Der Stickstoffgehalt der lufttrockenen Faeces beträgt 5,2%. In 1,1575 g lufttrockenen Faeces sind enthalten 1,0550 g absolute Trockensubstanz.

100 ccm des wässerigen Filtrats (Kjeldahl) binden 1,9 ccm $^1/_{10}$ n S.

In 20 ccm des wässerigen Filtrats sind enthalten 0,0696 g absolute Trockensubstanz.

In 118,1 g feuchten Faeces sind enthalten 1,9665 g N. In das wässerige Extrakt von 118,1 g Faeces gehen über 0,31413 g N = 16%.

In 118,1 g feuchten Faeces sind enthalten 37,817 g lufttrockene Substanz (= 34,458 g absolute Trockensubstanz),

d. i. 32% lufttrockene Substanz,
68% Wasser.

In 118,8 g feuchten Faeces sind enthalten 34,458 g absolute Trockensubstanz, in das wässerige Extrakt von 118,1 g gehen über 4,1099 g absolute Trockensubstanz = 11,9%.

Ferment (im wässerigen Filtrat).

1. Diastase: unverdünnt nach 24 Stunden:

0,1 0,16, 0,25 unverdaut,
0,4 0,64, 1,0 verdaut.

Berechnung: 0,4 ccm verdauen 5 ccm Stärkelösung
1,0 „ „ 12,5 „ „

In 800 ccm = 80 g Faeces = 10000 ccm Stärkelösung.
In 118,1 g „ = 14762 „ „
„ 118,1 g „ = 34,458 g absolute Trockensubstanz.

In 1 g absolute Trockensubstanz = 428,42 ccm Stärkelösung.

Fernerhin: In 118,1 = 1,9665 g N.

$$\text{Auf } 0{,}01 \text{ g N} = \frac{14762}{1{,}9665 \times 100} = 75{,}07 \text{ ccm Stärkelösung.}$$

2. Pepsin: Es ist kein Pepsin vorhanden.

3. Trypsin: a) Zusatz von 10 ccm gekochten Faecesfiltrats.

In 50 ccm = 5,5 $^1/_{10}$ nS. In 200 ccm = 4,3 $^1/_2$ nS.

b) Zusatz von 10 ccm ungekochten Faecesfiltrats.

In 50 ccm = 6,2 $^1/_{10}$ nS. In 200 ccm = 4,9 $^1/_2$ nS.

Differenz 0,5 $^1/_2$ nS.

Berechnung: In 200 ccm = 0,5 $^1/_2$ nS.

„ 400 „ = 0,5 „

„ 10 „ Faecesfiltrat = 0,5 n S.

„ 800 „ = 80 g Faeces = 40 n S.

In 118,1 Faeces = 34,458 g absolute Trockensubstanz = 59,05 n S.

Auf 100 g absolute Trockensubstanz = 171,37 n S.

Fernerhin: In 118,1 g feuchten Faeces sind enthalten 1,9665 g N.

Also auf 1 g N = $\frac{59{,}05}{1{,}9665}$ = 30,028 ccm n S.

4. Maltase: Keine Maltase vorhanden.

5. Invertin: a) 2% Rohrzuckerlösung + 10 ccm gekochten Faecesfiltrats. Reduziert nicht. Drehung 2,2%.

Nach 24 Stunden: ebenfalls 2,2%. Keine Reduktion.

b) 2% Rohrzuckerlösung + 10 ccm ungekochten Faecesfiltrats. Reduziert nicht. Drehung 2,2%.

Nach 24 Stunden: Drehung 1,8%. Starke Reduktion.

Es sind also geringe Mengen von Invertin vorhanden.

6. Lipase: a) Gekocht = 0,7 $^1/_{10}$ nS.

b) Ungekocht = 0,6 $^1/_{10}$ nS.

Es war also keine Lipase vorhanden.

Nuclease.

Zur Nucleasebestimmung wurde ein Nucleoproteid hergestellt, dessen Purinkörper in Ammoniak löslich sind. Das Nucleoproteid der Kalbsthymus enthält zum größten Teil Adenin, welches sich verhältnismäßig leicht in Ammoniak löst. Zur Darstellung des Nucleoproteids wurde zirka 500 g Kalbsthymus fein gehackt, mit $1^1/_2$ l Wasser zum Sieden erhitzt, 10 Minuten im Sieden erhalten, filtriert. Das Filtrat wurde noch warm vorsichtig mit Essigsäure versetzt, bis sich ein feinflockiger Niederschlag abscheidet. Der Niederschlag wurde durch Dekantieren gewaschen und unter 100 ccm Chloroformwasser feucht aufbewahrt. Der Niederschlag gab eine äußerst starke Phloroglucinprobe sowie Orcinreaktion.

1. Versuch: 80 g normaler Faeces wurden mit Wasser aufs Volumen 800 ccm verrieben, filtriert.

a) 20 ccm des Faecesfiltrats wurden mit 5 ccm der gut umgeschüttelten Nucleoproteidsuspension versetzt, neutrali-

siert, unter Toluol 48 Stunden in den Brutschrank bei 37° gestellt.

b) 20 ccm des gekochten Faecesfiltrats wurde mit 5 ccm der gut umgeschüttelten Nucleoproteidlösung versetzt, neutralisiert und unter Toluol 48 Stunden in den Brutschrank gestellt.

Die beiden Flüssigkeiten wurden nun mit NH_3 stark alkalisiert, umgeschüttelt und nach einiger Zeit filtriert. Auf Zusatz von $AgNO_3$ blieben beide Versuchsproben völlig klar.

In einem 2. Versuch, der mit dem normalen Faecesfiltrat einer anderen Person angestellt wurde, blieb die Flüssigkeit, die mit dem gekochten Faecesfiltrat beschickt war, klar, während in der mit ungekochtem Faecesfiltrat versetzt gewesenen Flüssigkeit nach Zusatz von $AgNO_3$ eine schwache Trübung (nach einigen Minuten) sich bildete. Zur weiteren Untersuchung war die Trübung viel zu gering.

Es finden sich also in den normalen Faeces keine oder höchstens minimale Spuren von Nuclease.

Zusammenfassung der Ergebnisse in den normalen Faeces.

Wenn ich nunmehr das Ergebnis der quantitativen Fermentuntersuchungen in den normalen Stühlen zusammenfasse, so betrugen die Werte für das amylolytische Ferment, berechnet auf 1 g Trockensubstanz:

Im 1. Versuch	1032,9 ccm Stärkelösung	d. i. im Durchschnitt = 704,4.[1])
„ 2. „	242,91 „ „	
„ 3. „	1113,4 „ „	
„ 4. „	428,42 „ „	

Berechnet auf 0,01 g N betrugen die Werte für die Amylase:

Im 1. Versuch	169,2 ccm Stärkelösung	d. i. im Durchschnitt 104,81.[2])
„ 2. „	38,939 „ „	
„ 3. „	136,03 „ „	
„ 4. „	75,07 „ „	

[1]) Da die Stärkelösung 1%, so betragen die Durchschnittswerte auf reine Stärke berechnet für 1 g Trockensubstanz 7,044.

[2]) Da die Stärkelösung 1%, so betragen die Durchschnittswerte auf reine Stärke berechnet für 0,04 g N 1,048.

Viel übereinstimmender sind die Werte für das proteolytische Ferment. Berechnet auf 100 g absolute Trockensubstanz betrugen dieselben:

Im 1. Versuch	132,21 ccm n S	d. i. im Durchschnitt = 180,75.
„ 2. „	207,28 „ „	
„ 3. „	212,13 „ „	
„ 4. „	171,37 „ „	

Berechnet auf 1 g N betrugen die Werte für das proteolytische Pankreasferment:

Im 1. Versuch	21,65 ccm n S	d. i. im Durchschnitt = 27,45.
„ 2. „	33,228 „ „	
„ 3. „	25,91 „ „	
„ 4. „	30,028 „ „	

Lipase war in den normalen Faeces nicht vorhanden, desgleichen nicht Pepsin.

Desgleichen fehlte Nuclease entweder völlig oder war nur in minimalen Spuren vorhanden. Maltase fehlte völlig.

Invertin war in geringer Menge vorhanden. Es betrug die Differenz in 10 ccm Faecesfiltrat gegenüber dem Faecesfiltrat vor eingetretener Invertinwirkung im 1. Versuch 0,2%, im 2. und 3. Versuch ebenfalls 0,2%, im 4. Versuch 0,4%.

Dies in 10 ccm Faecesfiltrat. Berechnet auf 100 g absolute Trockensubstanz:

Im 1. Versuch	66,106	d. i. im Durchschnitt = 85,75.
„ 2. „	69,093	
„ 3. „	70,71	
„ 4. „	137,1	

Berechnet auf 1 g Stickstoff:

Im 1. Versuch	10,83	d. i. im Durchschnitt = 13,64.
„ 2. „	11,076	
„ 3. „	8,637	
„ 4. „	24,023	

Untersuchungen nach Darreichung von Folia Sennae.

Krug. 30. I. 09. Um 6 Uhr abends Klistier, reichliche Entleerung. Morgens den 31. I. um 8 Uhr Glycerineinspritzung (ca. 2 ccm), etwas Stuhl.

Um $^1/_2$9 Uhr 10 g Infus. Fol. Sennae auf 200 g Wasser. Bis mittags nichts gegessen und getrunken.

Um $^3/_4$12 Uhr vorm. reichliche, dünnbreiige Entleerung ohne Schmerzen.

Um $^1/_4$2 Uhr nachm. Kolik: etwas dünner Stuhl mit Schleim.

Um $^1/_2$3 Uhr nachm. heftige Kolik, reiner Schleimabgang.

Der Stuhl ist dünnbreiig, enthält nur wenig feste Kotmassen. Reaktion alkalisch, Stuhl übelriechend. Reichlich gelatinöser Schleim. Makroskopisch: Kein Languis. Weber: schwach +.

Sublimat.: Alles makroskopisch rötlich gefärbt. Bei mikroskopischer Untersuchung zeigen die Cellulose, die zahlreichen Epithelien des Schleimes und die spärlichen Muskelfasern höchstens einen schwach grünlichen Schimmer neben dem stark rötlichen Grundton dieser Partikel.

Ges. Faeces = 278,6 g. 209 g wurden mit Wasser aufs Volumen 800 ccm verrieben, filtriert. 69,6 g Faeces wurden getrocknet; lufttrocken = 7,3 g. Der Stickstoffgehalt der lufttrockenen Faeces beträgt 5,7%. In 0,7721 g lufttrockenen Faeces sind enthalten 0,6776 g absolute Trockensubstanz.

100 ccm des wässerigen Faecesfiltrats (Kjeldahl) binden 3,6$^1/_{10}$ nS.

In 40 ccm des Filtrates sind enthalten 0,3222 g absolute Trockensubstanz.

In 278,6 g getr. Faeces (feucht) sind enthalten 1,6656 g N; in das wässerige Extrakt von 278,6 g Faeces gehen über 0,53746 g N = 32,3%.

In 278,6 g Faeces sind enthalten = 29,221 g luftrockene Substanz (= 25,644 g absolute Trockensubstanz),

d. i. 10,5% lufttrockene Substanz,
89,5% Wasser.

In 278,6 g Faeces sind enthalten 25,644 g absolute Trockensubstanz; in das wässerige Extrakt von 278,6 g Faeces gehen über 8,59 g absolute Trockensubstanz = 33,5%.

In 278,8 g feuchten Faeces (= 25,644 g absolute Trockensubstanz) sind enthalten 1,5569 g AgCl.

In 100 g absoluter Trockensubstanz sind enthalten 6,0713 g AgCl = 1,50111 g Cl.

Es war sicher kein Urin beigemengt.

Fermente (im wässerigen Filtrat).

1. Diastase: Bei Verdünnung von 1 Teil Faecesfiltrat: 31 Teilen Wasser ist noch alles verdaut, bei Verdünnung von 1: 63 Wasser 0,1, 0,16, 0,25, 0,4 negativ, 0,64 und 1,0 positiv.

Berechnung: 0,64 ccm verdauen 5 ccm Stärkelösung,

$$1 \text{ ccm verdaut } \frac{5 \times 100}{64} \text{ 64 fache Verdünnung!}$$

$$1 \text{ ccm} = \frac{5 \times 100 \times 64}{64} = 500 \text{ ccm Stärkelösung.}$$

In 800 ccm (wässeriges Extrakt von 209 Faeces) = 400000 ccm.
In 278,6 g Faeces = 533200 ccm Stärkelösung.
278,6 g = 25,644 g Trockensubstanz.
In 1 g Trockensubstanz = 20 792 ccm Stärkelösung.
Fernerhin: In 278,6 g Faeces = 1,6656 g N.
Auf 0,01 g N = 3186,4 ccm Stärkelösung.

2. Pepsin: Es ist kein Pepsin vorhanden.

3. Trypsin:

a) Im blinden Versuch von 50 ccm . . . . . = $5{,}3\ ^1/_{10}$ n S
b) Bei Zusatz von 10 ccm ungekochten Faecesfiltrats in 50 ccm . . . . . = $10{,}3\ ^1/_{10}$ n S
Differenz $5\ ^1/_{10}$ n S.

Berechnung: In 50 ccm = $5\ ^1/_{10}$ n S. In 400 = 4 n S.
Dies ist in 10 ccm. In 800 (= 209 g Faeces) = 320 n S.
In 278,6 = 25,644 g absolute Trockensubstanz = 426,56 ccm n S.
Auf 100 g Trockensubstanz (absolute) = 1663,4 n S.
Fernerhin: In 278,6 Faeces sind enthalten 1,6656 g N.

$$\text{In 1 g N} = \frac{426{,}56}{1{,}6656} = 256{,}1 \text{ n S.}$$

4. Maltase: Maltaselösung 1: 50 Wasser + 10 ccm Faecesfiltrat.

a) Vorher Drehung 3,8
b) Nach 24 Stunden im Brutschrank Drehung 3,2
0,6 ccm.

Da die Drehung beträchtlich abgenommen, so ist entschieden Maltase vorhanden.

5. Invertin: Rohrzuckerlösung 1: 50 Wasser + 10 ccm Faecesfiltrat.

a) Vor Aufenthalt im Brutschrank: Drehung 2,0. Keine Reduktion.
b) Nach 24 Std. „ „ 1,4. Starke Reduktion,

so ist also Invertin in gegen die Norm vermehrter Menge vorhanden.

6. Lipase: a) Gekochtes Filtrat = $0{,}8\ ^1/_{10}$ n S.
b) Ungekochtes „ = $0{,}7\ ^1/_{10}$ n S.

Es ist also keine Lipase vorhanden in den Sennafaeces.

7. Nuclease. Je 20 ccm gekochten bzw. ungekochten Faecesfiltrats + 5 ccm der gut umgeschüttelten Nucleoproteinaufschwemmung wurden nach Neutralisation mit Toluol versetzt; beide Gläser wurden für 48 Stunden in den Brutschrank gestellt. Alsdann NH_3-Zusatz. Stehenlassen unter Umrühren, Filtration. Zusatz von $AgNO_3$ zu dem klaren

Filtrat. Deutlicher, flockiger Niederschlag, der aber in dem Versuch mit dem gekochten Faecesfiltrat ausbleibt.

Der Niederschlag wird aufs Filter gebracht, mit Wasser ausgewaschen. In ein Kölbchen gebracht, H_2S eingeleitet unter Schütteln, bis der Niederschlag völlig schwarz erscheint. Filtration. Filtrat auf dem Wasserbad erwärmt, zur Trockne gedampft. Der spärliche Rückstand gibt stark die sogenannte Xantinprobe.[1])

Hierdurch ist erwiesen, daß in dem Filtrat der Sennafaeces Nuclease enthalten ist, die imstande ist, aus dem Nucleoproteid die Purinkörper abzuspalten.

Besprechung der Versuche mit Folia Sennae.

In diesem nach Darreichung von Infusum Fol. Sennae (10,0:200,0) auf nüchternen Magen entleerten, dünnflüssigen Stuhl dürfte das Vorliegen einer Hypersekretion gesichert sein. Es wurden ca. 252 g Wasser entleert mit einem abnorm vermehrten Chlorgehalt (1,501 g auf 100 g absolute Trockensubstanz). Bilirubin war nur in geringer Menge vorhanden. Während die normalen Werte für das proteolytische Pankreasferment auf 100 g absolute Trockensubstanz berechnet im Durchschnitt 180,75 ccm n S, auf 1 g Stickstoffsubstanz berechnet im Durchschnitt 27,45 ccm Normalsäure beträgt, sind die Werte nach Sennes-Darreichung sehr beträchtlich vermehrt (fast um das Zehnfache des Normalen): sie betragen auf 100 g absolute Trockensubstanz 1663,4 n S, auf 1 g Stickstoffgehalt 256,1 ccm n S. Hiermit stimmt vortrefflich überein, daß auch der Chlorgehalt um das 15fache gegenüber der Norm vermehrt ist. Desgleichen betragen die Werte für das amylolytische Ferment normaliter auf 1 g Trockensubstanz berechnet im Durchschnitt 704,4 ccm Stärkelösung, auf 0,01 g N berechnet im Durchschnitt 104,81 ccm Stärkelösung. In den Sennesfaeces betragen die Werte auf 100 g Trockensubstanz berechnet dagegen 20792 ccm Stärkelösung, auf 0,01 g N berechnet 3186,4 ccm Stärkelösung; also eine kolossale Vermehrung gegenüber der Norm. Lipase war auch in den Sennafaeces nicht nachzuweisen, desgleichen fehlte Pepsin. Dagegen waren Dünndarmsekrete in vermehrter Menge vorhanden: normaliter fehlt ja Maltase, Nuclease (bis auf minimale

[1]) Lösen des Rückstandes in Salpetersäure; vorsichtiges Verdampfen über einer kleinen Flamme zur Trockne. Gelber Fleck, nach Befeuchten mit Natronlauge Orangefärbung.

Spuren), desgleichen ist auch Invertin nur in verhältnismäßig geringen Mengen normaliter nachzuweisen (auf 100 g Trockensubstanz berechnet im Durchschnitt 85,75, auf 1 g Stickstoffsubstanz berechnet im Durchschnitt 13,64). In den Sennesfaeces war Nuclease mit Sicherheit nachzuweisen, desgleichen auch Maltase. Es betrugen die Werte für Maltase auf 100 g Trockensubstanz 249,2, auf 1 g Stickstoffsubstanz 38,415. Desgleichen waren die Werte für Invertin gegenüber der Norm vermehrt: auf 100 g Trockensubstanz 249,2, auf 1 g N-Substanz 38,415). Bemerkenswert ist auch der Schleimgehalt (Dickdarmsekretion). Ob eine Transsudation von Wasser in den unteren Partien des Darmtractus neben der Hypersekretion stattgefunden hat, ist nicht mit Sicherheit zu entscheiden; sicher ist dies jedoch für den Sennaversuch von C. Schmidt[1]), wo nach Darreichung von 30 g Fol. Sennae innerhalb 24 Stunden 1936,6 g Wasser in den Stühlen entleert wurde. — Es hat sicherlich auch die gesteigerte Peristaltik einen Anteil an der Vermehrung der Fermente; der gleichzeitig abnorm vermehrte Chlorgehalt (um das 15fache des Normalen!!) ist jedoch unmittelbar beweisend für das Vorliegen einer vermehrten Ausscheidung aus dem Körperinnern, da sonst das so leicht resorbierbare Chlor in den 3 Stunden nach Eingabe des Mittels sicherlich zum größten Teil resorbiert sein müßte. Ich betone, daß Fol. Sennae morgens nüchtern gegeben wurden. — Jedenfalls ist auch für die Sennafaeces die Radzijewskische Anschauung nicht aufrecht zu erhalten, wonach an der Hervorrufung der dünnflüssigen Abführmittelstühle lediglich die Peristaltik maßgebend ist. Wie unrichtig die noch heute geltende Anschauung ist, zeigt die Darstellung dieses Themas in den Ergebnissen der Physiologie von Asher und Spiro, die ich in kurzem wiedergebe: „In die Gruppe der Anthracenderivate, welche nur durch Erregung der Peristaltik wirken, gehören von gebräuchlichen Mitteln, Senna, Rhabarber, Frangula, Cascara Sagrada, Rhamnus cathartica und Aloe. Daß diese Substanzen auf die Darmsekrete ohne Einfluß sind, zeigen verschiedene Versuche. Thiry gab einem Hunde, dem er eine Dünndarmfistel angelegt hatte, Senna per os, und sah ebensowenig Sekre-

[1]) C. Schmidt, Charakteristik der epidemischen Cholera gegenüber verwandten Transsudationsanomalien. 1850.

tion aus der Fistel austreten, als wenn er die Substanz in die Fistel selbst einbrachte. Brieger führte bei hungernden Hunden die Abführmittel in abgebundene Darmschlingen ein, die er für mehrere Stunden reponierte, und fand, daß auf Senna, Rheum und Aloë die Schlinge leer blieb und die Darmschleimhaut nicht entzündet war. Flemming sah in dem leeren Dünndarm und dem nur teilweise gefüllten Dickdarm von jungen Kaninchen auf Senna eine Flüssigkeitsausscheidung nicht eintreten".

Diese Tierexperimente treffen, wie ich nachgewiesen, wenigstens was Fol. Sennae anlangt, für den Menschen nicht zu; hier muß das Vorhandensein einer Hypersekretion als sicher gestellt gelten.

Es folgt nun ein neuer Versuch beim Menschen nach Darreichung von Bittersalz, der die quantitativen Fermentverhältnisse berücksichtigt und sich an die bisher veröffentlichten Bittersalzversuche von mir anschließt.

Bittersalzfaeces.

Kr. Sonnabend den 13. II. 09, nachmittags 4 Uhr Klystier, reichliche Entleerung.

Sonntag um $^1/_2$ 11 Uhr vormittags nüchtern $^1/_2$ Liter Wasser, darin gelöst 25 g chemisch reines, kochsalzfreies Magnesiumsulfat. 5 Minuten nach $^1/_2$ 12 reichliche, dünnflüssige Entleerungen (20 Minuten andauernd); werden untersucht. Ißt und trinkt nicht bis zur erfolgten Entleerung! 1 Stunde später noch einmal etwas wässeriger Stuhl, ebenso nachmittags um 3 Uhr, abends um 8 Uhr und nachts um $^1/_2$ 12 Uhr wässerige Stuhle; werden nicht mehr untersucht.

Stuhl: ganz dünnflüssig, kein Schleim (spärliche feste Kotbröckel schwimmen obenauf). Reaktion alkalisch. Languis schwach + (hat am Tage vorher Blutwurst genossen!!)

Sublimat: alles rotgefärbt, auch bei mikroskopischer Betrachtung nach 24 Stunden.

Kein Schleim. Albumin 0 (Ury-Schloeßmann).

Ges. Faeces = 745,9 g. 552 g wurden mit Wasser aufs Volumen 800 ccm verrieben, filtriert. 193 g Faeces wurden getrocknet. Lufttrocken = 16,7 g.

Der Stickstoffgehalt der lufttrockenen Faeces beträgt 4,9%. In 0,7671 g lufttrockenen Faeces sind enthalten 0,7316 g absolute Trockensubstanz.

10 ccm des wässerigen Filtrates (Kjeldahl) binden 3,2 ccm $^1/_{10}$ n S.

In 40 ccm des Filtrates sind enthalten 0,7248 g absolute Trockensubstanz.

In 745,9 g feuchter Faeces sind enthalten 3,1478 g N; in das wässerige Extrakt von 745,9 g Faeces gehen hinein = 0,4843 g N = 15,4%.

In 745,9 g Faeces sind enthalten 64,242 lufttrockene Substanz (= 61,269 g absolute Trockensubstanz), d. i. 8,61% lufttrockene Substanz, 91,39% Wasser.

In 745,9 g feuchten Faeces sind enthalten 61,269 g absolute Trockensubstanz; in das wässerige Extrakt von 745,9 g Faeces gehen über 15,927 g absolute Trockensubstanz = 26%.

In 745,9 g feuchten Faeces (= 61,269 g absolute Trockensubstanz) sind enthalten 4,1896 g AgCl.

In 100 g absoluter Trockensubstanz = 6,838 g AgCl = 1,6907 g Cl.

Ferment im wässerigen Filtrat.

Diastase: 1 Teil Faecesfiltrat: 1 Teil Wasser: 0,1, (0,16, 0,25) nicht verdaut,

0,4, (0,64) verdaut.

Berechnung: 0,4 ccm verdauen 5 ccm Stärkelösung. War um die Hälfte verdünnt, also 0,4 ccm des Filtrates verdauen 10 ccm Stärkelösung.

1 ccm = 25 ccm Stärkelösung.
800 ccm = 20000 ccm Stärkelösung
(in 552 g Fäces).

745,9 g feuchte Faeces (= 61,269 absolute Trockensubstanz) = 27025
Auf 1 g absolute Trockensubstanz = 441,09 Stärkelösung.

Fernerhin: In 745,9 g = 3,1478 g N.
Auf 0,01 g N = 85,856 ccm Stärkelösung.

2. Pepsin: Es ist kein Pepsin vorhanden.

3. Trypsin:

a) Im blinden Versuch in 50 ccm . . . . . = 5,4 $^1/_{10}$ n S
b) Bei Zusatz von 10 ccm ungekochten Faecesfiltrats . . . . . = 7,4 $^1/_{10}$ n S
Differenz 2,0 $^1/_{10}$ n S.

Berechnung: In 50 ccm = 2,0 $^1/_{10}$ n S. In 400 ccm = 16 $^1/_{10}$ n S.

In 10 ccm = 16 $^1/_{10}$ n S. Auf 800 ccm Filtrat (= 552 g Faeces) = 128 n S.

In 745,9 (= 61,269 absolute Trockensubstauz) = 172,96 n S.

In 100 g absoluter Trockensubstanz = 282,3 n S.

Fernerhin: In 745,9 g Faeces = 3,1478 g N.

In 1 g N = $\frac{172{,}96}{3{,}1478}$ = 54,947 n S.

4. Maltase: 1 g Maltase : 50 Wasser + 10 ccm Faecesfiltrat).

a) Vorher Drehung 3,9

b) Nach 24 Stunden Drehung 3,4

0,5 ccm.

Drehung hat beträchtlich abgenommen.

5. Invertin (1 g Rohrzucker auf 50 ccm Wasser + 10 ccm Faecesfiltrat).

a) Vor Aufenthalt im Brutschrank: Drehung 1,8. Keine Reduktion.

b) Nach 24 Stunden sehr starke Reduktion: Drehung 0,8

Differenz 1,0.

Es ist also Invertin in ganz abnorm vermehrter Menge vorhanden.

6. Lipase: a) Gekochtes Filtrat = 0,7 $^1/_{10}$ n S.

b) Ungekochtes „ = 0,7 $^1/_{10}$ n S.

Es ist also keine Lipase vorhanden.

7. Nuclease:

a) 20 ccm Filtrat (gekocht) + 5 ccm Nucleoproteidlösung { neutralisiert

b) 20 ccm „ (ungekocht) + 5 ccm „ { + Toluol

a) Bleibt klar. (Erst nach 24 Stunden bildet sich ein Niederschlag von phosphorsaurer Ammoniakmagnesia.)

b) Mäßiger, starker flockiger Niederschlag, der als Purinkörper enthaltend, identifiziert wird.

Es ist also Nuclease vorhanden.

Besprechung des Bittersalzversuches.

In Übereinstimmung mit den zahlreichen früher von mir ausgeführten Bitterwasseruntersuchungen geht auch aus diesen Bestimmungen das Vorliegen einer außerordentlich starker Transsudation hervor. Es wurden nüchtern aufgenommen 500 ccm Bittersalzlösung: nach 1 Stunde wird bereits ein Stuhl mit einem Gehalt von 685 g Wasser entleert. Dabei ist in diesem Stuhl nur ein Teil des Bittersalzes entleert worden, wie die zahlreichen noch später auftretenden Entleerungen und die Analogie mit den früheren Bitterwasserversuchen erweisen. Der Chlorgehalt war abnorm vermehrt; auf 100 g absolute Trockensubstanz 1,6907 g Chlor. Die Werte für das proteolytische Pankreasferment betrugen, berechnet auf 100 g absolute Trockensubstanz, 282,3 ccm Normals., auf 1 g N 54,947 ccm Normals.

Dies ist eine verhältnismäßig nicht allzu bedeutende Vermehrung gegenüber der Norm. Die Werte für das amylolytische Ferment überschreiten sogar in keiner Weise den für die normalen Werte gelassenen Spielraum; sie betragen auf 1 g absolute Trockensubstanz 441,09 ccm. Stärkelösung: auf 0,01 g N 85,856 ccm Stärkelösung. Pepsin und Lipase fehlten. Nuclease war mit Sicherheit nachweisbar. Desgleichen war Maltase nachweisbar: es betrug der Wert auf 100 g absolute Trockensubstanz = 88,23, auf 1 g N-Substanz 17,171. Auch die Werte für das Invertin waren mäßig vermehrt: auf 100 g Trockensubstanz 176,46, auf 1 g Stickstoffsubstanz 34,342. Eine vermehrte Sekretion der Dickdarmdrüsen (Schleim) war nicht nachzuweisen. Die mäßige Hypersekretion der Dünndarmdrüsen kann in keinem Falle die starke Wasserausscheidung in diesem Stuhl erklären, sondern es muß unzweifelhaft zu der Drüsensekretion eine ganz abnorme und starke capillare Wassertranssudation im Sinne von C. Schmidt hinzugekommen sein. Inbezug auf die nach Bitterwasser eintretende Steigerung der Peristaltik, Retention des Lösungswassers s. die einschlägigen Versuche in meiner früheren Arbeit.

Die Resultate der quantitativen Fermentuntersuchungen sowohl für die normalen Faeces als auch für die Sennesfaeces und Bittersalzfaeces sind in Form der nebenstehenden Tabelle zusammengestellt.

Die quantitative Untersuchung sowohl des Chlorgehaltes im wässerigen Filtrat als auch der einzelnen Fermente hat eine hohe theoretische Bedeutung. Wie ich in meiner Abführmittelarbeit (Arch. f. Verdauungskr. Bd. 14, S. 530) eingehend auseinandergesetzt habe, dienen diese Untersuchungen dazu, den Mechanismus des Zustandekommens von Diarrhöen sowohl nach Abführmitteln als auch bei pathologischen Zuständen des Darmes näher zu zergliedern und abnorme Transsudationen und Hypersekretionen exakter zu erkennen. Nicht minder groß ist jedoch die praktische Bedeutung dieser Untersuchungen bei allen pathologischen Zuständen im Bereich des Darmtractus (ganz allgemein ausgedrückt). Dies geht ja aus den schönen Untersuchungen von Müller und Schlecht unmittelbar hervor. Es ist außerordentlich wünschenswert und steht zweifellos zu erwarten, daß uns bereits das nächste Jahr eine Fülle von Detailarbeiten

Tabelle.

	Datum	Kotmenge	Wassergehalt berechnet auf luftrockene Substanz	Absolute Trockensubstanz		Stickstoffgehalt		Chlorgehalt im wässerigen Filtrat berechnet auf 100 g absolute Trockensubstanz	Fermente im wässerigen Filtrat													
									Pepsin	Pankreasferment (bzw. Darmsekret)						Dünndarmfermente						
										Amylolytisches Ferment		Proteolytisches Ferment		Lipase	Nuclease	Maltase		Invertin				
										Berechnet auf 1 g Trockensubstanz	Berechnet auf 0,01 g N	Berechnet auf 100 g Trockensubstanz	Berechnet auf 1 g N			Berechnet auf 100 g Trockensubstanz	Berechnet auf 1 g N	Berechnet auf 100 g Trockensubstanz	Berechnet auf 1 g N
		g	%	Ges. Trockensubstanz	Wässeriger Extrakt	Ges. N.	Wässeriger Extrakt	Standardwert 0,1025 Cl														
Normale Faeces	22. X. 08	113,2	64	34,682	5,2044 (= 15 %)	2,1171	0,4172 (= 19 %)		Nicht vorhanden	1032,9 ccm Stärkelösung	169,2 ccm Stärkelösung	132,21 ccm NS	21,659 ccm NS	Nicht vorhand.	Nicht vorhanden resp. in minimalen Spuren	Nicht vorhand.	Nicht vorhand.	66,106	10,83				
	24. XI. 08	101	69,18	28,874	4,9278 (= 17,1 %)	1,8012	0,3630 (= 20,2 %)			242,91 ccm Stärkelösung	38,939 ccm Stärkelösung	207,28 ccm NS	33,228 ccm NS	„	„	„	„	69,093	11,076				
	10. XII. 08	143,1	66,8	39,488	6,7223 (= 17 %)	3,2329	0,5081 (= 15,7 %)			1113,4 ccm Stärkelösung	136,03 ccm Stärkelösung	212,13 ccm NS	25,91 ccm NS	„	„	„	„	70,71	8,637				
	7. I. 09	118,1	68	34,458	4,1099 (= 11,9 %)	1,9665	0,3141 (= 16 %)			428,42 ccm Stärkelösung	75,07 ccm Stärkelösung	171,37 ccm NS	30,028 ccm NS	„	„	„	„	137,1	24,023				
Sennesstuhl	30. I. 09	278,6	89,5	25,644	8,59 (= 33,5 %)	1,6656	0,5374 (= 32,3 %)	1,5011	Nicht vorhand.	20792 ccm Stärkelösung	3186,4 ccm Stärkelösung	1663,4 ccm NS	256,1 ccm NS	„	Vorhanden	249,2	38,415	249,2	38,415				
Bittersalzstuhl	13. II. 09	745,9	91,39	61,269	15,927 (= 26 %)	3,1476	0,4843 (= 15,4 %)	1,6907	Nicht vorhand.	441,09 ccm Stärkelösung	85,856 ccm Stärkelösung	282,3 ccm NS	54,947 ccm NS	„	Vorhanden	88,23	17,171	176,46	34,342				

in bezug auf den Chlorgehalt und Fermentgehalt in den Darmentleerungen bei den einzelnen Erkrankungen des Darmtractus bringen wird. — Ich möchte den Forschern noch einmal nahelegen, bei den Untersuchungen auf das proteolytische Pankreasferment in den Faeces mehr als dies bisher geschehen, die Volhardtsche Methode anzuwenden, da dieselbe durchaus nicht schwierig ist und gerade für die Faeces außerordentlich exakte Resultate liefert.

Bemerkung zu unserer Arbeit: Zur Kenntnis der Placentaenzyme.

Von

Walther Löb und Shigeji Higuchi.

Die in unsrer Arbeit[1]) auf S. 317 erwähnte Beobachtung, daß die alkoholischen Placentaextrakte mit alkoholischen Mangan- und Eisenchlorürlösungen mehr oder weniger aktive Niederschläge geben, verdanken wir einer freundlichen Anregung von Herrn Dr. W. Weber in Hamburg, dem Leiter der Pankreatinabteilung der chemischen Fabrik Rhenania. Der betr. Passus in unserer Mitteilung soll also lauten: „An dieser Stelle sei eine Beobachtung von Herrn Dr. W. Weber in Hamburg erwähnt, die usw." Die gesperrt gedruckten Worte fehlten versehentlich in der Abhandlung.

[1]) Diese Zeitschr. 22, 316, 1909.

Über die Bestimmung des Pepsins durch Aufhellung von trüben Eiereiweißlösungen.

Von

S. Hata, Tokio.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 10. November 1909.)

Mit 3 Figuren im Text.

Im Anschluß an das Ricinverfahren sind bereits mehrere andere Eiweißkörper auf ihre Verwendbarkeit für die Pepsinbestimmung geprüft worden. Ich habe vor einem Jahre Versuche mit Eiereiweiß angestellt, über die ich hier berichten will.[1])

Wenn man ein Hühnereiweiß mit destilliertem Wasser verdünnt und auf 60° erwärmt, so bekommt man eine ganz gleichmäßig getrübte Eiweißsuspension. Diese Suspension ist sehr empfindlich gegen Pepsinverdauung und bewährt ihre Suspensionsstabilität sehr lange, ja monatelang ist sie im Eisschrank unter Chloroformzusatz gut aufzubewahren, ohne daß dabei irgendeine Zustandsveränderung eintritt.

---

[1]) Ich habe die Arbeit damals bereits niedergeschrieben, mit der Veröffentlichung aber gezögert, weil ich ein kurzes Referat über eine schon 1907 in dänischer Sprache erschienene Arbeit von Liebmann fand, der bereits trübes Eiereiweiß für Pepsinversuche benutzt hat. Ich wandte mich deshalb zunächst an Herrn Prof. Madsen mit der Bitte um Auskunft. Durch äußere Umstände konnte ich von Herrn Prof. Madsen, dem ich für seine große Liebenswürdigkeit herzlich danke, erst jetzt Näheres über die Versuche Liebmanns erfahren. Danach unterscheiden sich beide Verfahren doch in so vielen Punkten, daß mir die Mitteilung meiner Resultate angebracht erscheint. Eine Veröffentlichung der Liebmannschen Arbeit in deutscher Sprache ist für die nächste Zeit in Aussicht gestellt.

Die Darstellung der Suspension ist einfach. Man verrührt ein Hühnereiweiß in einer großen Reibschale, um das anfangs ungleich konzentrierte Eiweiß zu einer ganz gleichmäßigen Konsistenz zu bringen. Darauf wird es mit immer zunehmender Menge von Wasser unter Umrühren verdünnt, bis es eine homogene und 5fache Verdünnung darstellt. Diese Verdünnung wird dann durch einen mit Gaze verstopften Trichter koliert und in einem Wasserbad 20 Minuten lang auf 60° erwärmt und dann nochmals durch den mit Gaze versehenen Trichter koliert. Das auf diese Weise gewonnene Colat stellt eine weiße, homogen getrübte Eiweißsuspension dar. Diese wird vor dem Gebrauch abermals mit dem 9fachem Volumen destillierten Wassers verdünnt.

Solche verdünnte Hühnereiweißsuspension wurde zur quantitativen Bestimmung des Pepsins eines Menschenmagensaftes angewandt. Zum Vergleiche wurde eine $^1/_2$%ige Ricinlösung herangezogen. In eine Reihe von Reagensgläsern wurden steigende Mengen von dem Magensaft eingefüllt und mit Wasser auf ein gleiches Volumen gebracht. Dazu wurden je 0,5 ccm $^n/_{10}$-HCl und je 2 ccm von der genannten Suspension resp. der Ricinlösung gesetzt. Die Röhrchen wurden in einen Brutschrank von 38° gestellt und nach verschiedenen Zeiten beobachtet, um zu sehen, ob eine Aufklärung des Röhrcheninhaltes eingetreten ist. Das Versuchsresultat war folgendes:

Neutralisierter[1]) Menschenmagensaft ccm	2 ccm Hühnereiweißsuspension wurden aufgelöst in Minuten	2 ccm Ricinlösung wurden aufgeklärt in Minuten
0,05	25 klar	60 klar
0,03	30 „	75 „
0,02	40 „	105 „
0,015	50 „	120 } noch nicht ganz
0,01	60 „	120 } klar
0,007	90 „	120 }
0,005	105 „	120 } noch deutliche
0,003	120 } noch nicht ganz	120 } Trübung und
0,002	120 } klar	120 } Niederschlag

[1]) Neutralisierung des Magensaftes wurde nach Pawlow mit $NaHCO_3$-Pulver vorsichtig ausgeführt. Bei gewöhnlichen Magensaftuntersuchungen ist sie aber praktisch nicht notwendig, weil der Saft so weit verdünnt wird, daß der Säuregehalt der Verdünnung nicht mehr in Betracht kommt.

Die Temperatur, bei welcher das Hühnereiweiß erwärmt und zur Suspension gebracht wird, hatte eine große Bedeutung bezüglich der Empfindlichkeit der Suspension gegen die peptische Verdauung. Eine 5fache Verdünnung des Hühnereiweißes, welche wie oben erwähnt ganz homogen verarbeitet war, wurde in mehrere Portionen geteilt und auf verschiedene Temperaturen, zwischen 60° bis 90°, 20 Minuten lang erwärmt. Die Temperatur wurde natürlich im Inhalt des Kölbchens gemessen. Nach der Erwärmung wurde durch Gaze koliert. Alle Suspensionen wurden vor dem Versuch mit Wasser 10fach verdünnt. In diesen Verdünnungen kann man nach der vorhandenen Trübung wohl diejenigen, welche auf 90°, 80° erhitzt waren, von denjenigen, welche auf 60° oder 65° erwärmt waren, unterscheiden, aber es ist nicht mehr möglich, mit bloßen Augen die auf 70° erhitzten von den auf 60° erhitzten zu differenzieren. Beim Verdauungsversuche ist dennoch eine bedeutender Unterschied der Empfindlichkeit der einzelnen Verdünnungen sofort bemerkbar, wie aus folgender Tabelle ersichtlich ist.

Menge von Pepsin Grübler	Aufklärung von 2 ccm der 50fachen Verdünnungen des Hühnereiweißes, welche bei folgenden verschiedenen Temperaturen dargestellt waren								Zum Vergleich Ricinlös. 1:500 2 ccm
g	91°	81°	75°	71°	67°	65°	61°	59°	
0,001	+++	+++	++++						
0,0007	+++	+++	+++						
0,0005	++	++	+++						
0,0003	+	++	+++	++++					
0,0002	—	—	++	++++	++++				
0,00015	—	—	—	+++	++++				
0,0001			—	+++	+++				
0,00007				++	+++	++++	++++	++++	++++
0,00005				++	++	++++	++++	++++	++++
0,00002				+	+	+++	+++	+++	+++
0,00003				—	+	++	++	+++	+++
0,000015				—	—	+	++	++	++
0,00001					—	—	+	++	+
0,000007						—	—	+	—
0,000005						—	—	—	—

++++: Aufklärung nach 15 Minuten, +++: nach 30 Minuten, ++: nach 45 Minuten, +: nach 1 Stunde, —: trübe noch nach 1 Stunde bei 38°.

Dieser Versuch zeigt also, daß die Erhitzung auf 60° uns die empfindlichste Suspension liefert und daß diese Suspension fast gleich empfindlich wie eine $^1/_{500}$-Ricinlösung ist. Die seit

langem bewährten und ihrer Einfachheit wegen allgemein angewandten Reagenzien, wie Fibrin und gekochtes Eiweiß, sind nicht ganz gleichmäßig konstituiert und für eine genaue quantitative Bestimmung nicht geeignet.

Unter den neueren Methoden halte ich die Ricin- und die Edestinmethoden für die vorzüglichsten. In der Empfindlichkeit übertrifft meine Methode diese beiden noch etwas. Ferner ist das Material, Hühnerei, überall erhältlich. Noch ein technischer Vorteil meiner Methode besteht darin, daß die Suspension so lange immer homogen trüb bleibt, bis die Verdauung vollzogen ist, dann aber ganz wasserklar wird, ohne eine Spur von ungelösten Körpern zurückzulassen. Als Nachteil meiner Methode könnte man wohl daran denken, daß das Hühnereiweiß je nach der Jahreszeit und auch nach Art und Stamm in seinem Eiweißgehalt und damit auch in der Empfindlichkeit verschieden sei. Tatsächlich zeigten die einzelnen Suspensionen aus verschiedenen Eiern eine kleine Schwankung in ihrer Empfindlichkeit. Wenn diese Schwankung auch so gering war, daß sie erst bei einer feineren Dosierung des Pepsins erkennbar war, muß sie jedoch bei genauerer Arbeit immer berücksichtigt werden. Diesen Nachteil kann man aber einfach dadurch beseitigen, daß man auf einmal von mehreren Eiern eine genügende Menge von Suspension darstellt und unter Chloroformzusatz im Eisschrank aufbewahrt. Wie schon erörtert, bleibt die Suspension monatelang unverändert. Nach 3, 5 und 7 Wochen mit demselben Pepsin untersucht, war die Empfindlichkeit genau dieselbe wie die der frischen Suspension. Wenn man das Reagens aber noch länger aufbewahren will, so kann man das in einer getrockneten Pulverform machen. Daß das getrocknete Präparat eine ganz gleiche Beschaffenheit bewahrt wie die frische Suspension, geht aus folgendem Versuche hervor.

Eine frische Suspension ohne Chloroformzusatz wurde im Vakuum von 50 bis 55° eingetrocknet. Aus 20 ccm von der Suspension bekam ich 0,8 g von schönem gelbem Eiweiß. Dies wurde in einer getrockneten Reibschale fein gepulvert und erst mit ein paar Tropfen und dann mit einer immer wachsenden Menge von destilliertem Wasser gut verrieben und verdünnt, bis das Ganze 200 ccm erreicht hat, so daß wieder eine 50fache Verdünnung gewonnen ist. Darauf wurde die Suspension durch

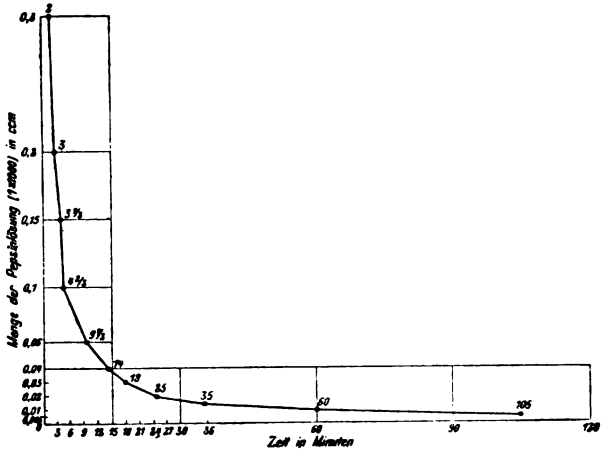
Gaze koliert. Diese zeigte nun eine gleiche Empfindlichkeit wie die originale Suspension. Ein Beispiel hierfür ist aus folgender Tabelle ersichtlich.

Pepsinmenge g	Frische Emulsion 1:50 2 ccm	Aus getrocknetem Pulver wiederhergestellte Suspension 1:50 2 ccm
0,0001	++++	++++
0,00007	+++	+++
0,00005	+++	+++
0,00003	++	++
0,00002	++	++
0,000015	+	+
0,00001	—	—
0,000007	—	—

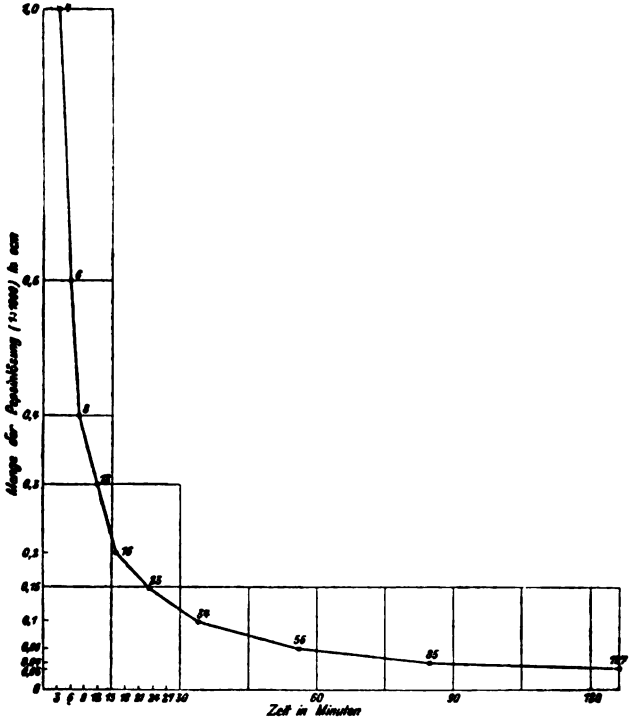
Manchmal war die einmal getrocknete Suspension ein wenig empfindlicher als die frische. Dies kommt von dem Verlust an Eiweiß bei dem Präparationsverfahren. Man kann also auf diese Weise ein lange haltbares und genau abwiegbares Präparat bekommen. Nach wiederholten Untersuchungen bekam ich durchschnittlich 0,4 g Pulver aus 10 ccm von 5facher Eiweißsuspension, wenn dabei auch eine kleine Schwankung der Ausbeuten zu bemerken war.

Die Untersuchungsmethode selbst geschieht nach demselben Prinzip wie die Ricin- und Edestinmethode. Man füllt in eine Reihe von Reagensgläsern steigende Mengen von Pepsin resp. Magensaft ein und füllt mit Wasser auf 1 ccm auf, setzt dazu 0,5 ccm $^n/_{10}$-HCl und 2 ccm von der genannten Suspension. Nach einer bestimmten Zeit bei bestimmter Temperatur ermittelt man die eben lösende Dose der untersuchten Pepsinlösung resp. des Magensaftes. Die Mettsche Methode hat einen einzigen Vorteil vor unserer Methode darin, daß man mit ihr mit nur einem Röhrchen zum Resultate kommen kann. Dies ist auch natürlich bei unserer Methode möglich, wenn man wiederholt nachsieht und nach der Zeitdauer, welche zur Aufklärung der Suspension durch die gegebene Pepsinmenge erforderlich ist, die Kraft des Fermentes indirekt bemessen will. Das Verhalten der Zeit und Pepsinmenge ist bei meiner Methode recht einfach. Genau so wie bei der Mettschen Methode stehen die Zeit und die Fermentmenge ungefähr umgekehrt proportional zueinander, wie es nicht anders zu erwarten

ist, weil in den beiden Methoden ein koaguliertes Eiweiß als Reagens gebraucht wird. Dieses Verhalten wird in den folgenden Kurven gezeigt.



Kurve 1.

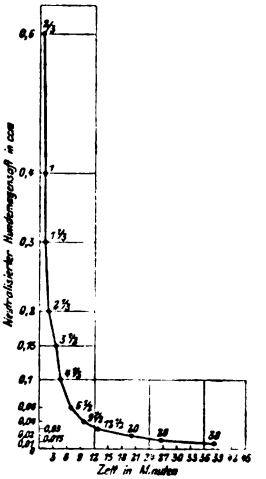


Kurve 2.

Wie aus diesen Kurven zu ersehen ist, ist die Zeitdauer fast umgekehrt proportional zur Pepsinmenge. Dies ist besonders bei der Verdauung bei Zimmertemperatur regelmäßig zu erkennen. Natürlich kann man auch die Reihenversuche bei Zimmertemperatur durchführen, wenn z. B. kein Thermostat zur Verfügung steht.

Normaler Menschenmagensaft hat eine ungefähr gleiche Kraft wie eine $1\,^0/_{00}$ige Pepsinlösung, so daß man die hier gegebenen Kurven als Maßstab gelten lassen kann. Hundemagensaft hat im allgemeinen viel stärkere Kraft. Ein Beispiel folgt:

Dieser Magensaft ist also etwa 3 mal so stark als die $1\,^0/_{00}$ige Pepsinlösung. Dieser Hundemagensaft zeigt noch eine erwähnenswerte Erscheinung; bei größeren Mengen des Saftes trat nämlich eine Trübung der einmal aufgeklärten Eiweißsuspension wieder ein. Dasselbe Phänomen wurde schon von Jacoby bei seinem Pepsinversuche mit erwärmtem Pferdeserum beobachtet. Diese Trübung wird durch Kochen in saurer Reaktion zur flockigen Koagulation gebracht. Eine solche Trübung kann man auch dadurch erzeugen, daß man zu einer Peptonlösung eine große Menge des gekochten, unwirksamen Hundemagensaftes und der Salzsäure zusetzt; ihre Bedeutung ist daher vorläufig nicht zu übersehen. Jedenfalls muß diese Trübung, wenn sie auch nur selten vorkommt, bei der Magensaftuntersuchung beachtet werden.



Kurve 3.

Über das Verhalten der Antikörper des Blutserums gegen Lösungsmittel und andere Reagenzien.

Von

K. Kawashima aus Japan.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 10. November 1909.)

Das Serum des Menschen und der Tiere besitzt bekanntlich zahlreiche Antigene und Antikörper; man kann mit ihm mannigfache Antikörperbildungen auslösen, viele Antigene neutralisieren und Tiere anaphylaktisch machen. Wie die verschiedenen Erscheinungen untereinander zusammenhängen und sich im einzelnen erklären, soll hier ganz unerörtert bleiben. Der praktischen Verwertung des Serums für die prophylaktische und therapeutische Anwendung wird in der Hauptsache durch das Phänomen der Überempfindlichkeit eine Grenze gezogen. Welche Serumstoffe sie auslösen und wie ihr Mechanismus ist, kann man noch nicht klar übersehen. Es ist aber nicht wahrscheinlich, daß die zahlreichen im Serum nachweisbaren Wirkungen alle in gleicher Weise an der Entstehung der Überempfindlichkeit beteiligt sind. Es ergibt sich daher die praktische Aufgabe, sich nach Trennungsmethoden für die den einzelnen Wirkungen zugrunde liegenden Substanzen trotz aller sicherlich vorhandenen Schwierigkeiten umzusehen.

Unsere diesbezüglichen Versuche sind über die ersten Anfänge noch nicht gediehen. Wenn wir trotzdem über die bisherigen Resultate berichten, so geschieht das, weil man hier nur schrittweise vorwärts kommen kann. Es ist im Hinblick auf Widersprüche in der Literatur nachdrücklich darauf hinzuweisen, daß bei der komplexen Natur der Erscheinungen die

Ergebnisse ganz von der Methode abhängig sind und jede über die Tatsachen hinausgehende Deutung ziemlich gegenstandslos ist.

Der Einfachheit halber wurden die Versuche mit normalem Pferdeserum angestellt, und zwar wurden zunächst die antitryptische sowie die Antilabwirkung berücksichtigt. Um sichere Vergleichswerte zu erhalten, wurden möglichst viele Versuche mit einem einheitlichen Präparat ausgeführt. Das Serum wurde dialysiert[1]) und dann im Vakuum bei Temperaturen unter 30° getrocknet. Das trockene Serumpulver wurde im Soxhletschen Apparat mit wasserfreiem Äther extrahiert, mit Alkohol, Methylalkohol und anderen Reagenzien behandelt.

Die Herstellung der Trockenpräparate hat sich als äußerst zweckmäßig erwiesen. Bei der vorsichtigen Trocknung bei niederer Temperatur im Vakuum bleibt die Wirksamkeit völlig erhalten. Das Serumpulver läßt sich gut aufbewahren und bequem abwiegen. Extrahiert man das gut getrocknete Pulver mit wasserfreiem Äther, so ist man vor Irrtümern geschützt. Eine direkte Ätherlöslichkeit der Antikörper wird dann nicht dadurch vorgetäuscht, daß etwa Antifermente durch kleine Wasserbeimengungen gelöst werden.

In der Literatur sind die Ansichten darüber, ob die Antifermente, insbesondere das daraufhin geprüfte Antitrypsin, Lipoidcharakter haben, sehr geteilt. Zu der prinzipiellen Auffassung der Natur der Antifermente wollen wir hier nicht Stellung nehmen, da bekanntlich der Lipoidcharakter einer Substanz vorgetäuscht und verdeckt werden kann. Was aber das rein Experimentelle anlangt, so möchten wir uns auf den Standpunkt K. Meyers stellen. K. Meyer[2]) hat allerdings das Antitrypsin nur unvollständig nach der Ätherextraktion im Rückstand des Soxhletapparates wiedergefunden. Aber er nimmt durchaus richtig an, daß der Verlust nicht durch Ätherlöslichkeit des Antitrypsins, sondern durch Unlöslichwerden in Wasser während der Behandlung bedingt ist. Bei unseren

[1]) Als Membran wurde Pergamentpapier oder Fischblase benutzt. Die Dialyse wurde immer mehrere Tage gegen destilliertes Wasser, welches täglich gewechselt wurde, fortgesetzt. Toluolzusatz schützte vor Fäulnis.

[2]) Kurt Meyer, Über die Natur des Serumantitrypsins. Berl. klin. Wochenschr. 1909, Nr. 42.

Versuchen erzielten wir vollkommene Wiederlösung des Pulvers in Wasser und absolute Intaktheit der Antifermentwirkungen.

Andere Autoren, insbesondere Schwarz[1]), behaupten, daß das Antitrypsin direkt ätherlöslich ist. Jedoch fehlen für diese Annahme hinreichende Beweise. Übrigens haben K. Meyer[2]) für die Hämolysine, M. Jacoby[3]) für die trypanocide Substanz des menschlichen Serums ein analoges Verhalten gegenüber Äther, wie wir für das Antitrypsin und das Antilab nachgewiesen.

In absolutem Äthylalkohol sind die untersuchten Antifermente auch vollkommen unlöslich und konnten fast immer im Rückstand quantitativ wiedergefunden werden. Wenn gelegentlich eine geringe Abnahme der Wirksamkeit beobachtet wurde, so ist das wohl, wie bei K. Meyers Ätherextraktionen, durch Verminderung der Wasserlöslichkeit zu erklären.

Bei der Einwirkung von Methylalkohol auf Serumpulver ist ein Unterschied des Verhaltens der beiden Antikörperwirkungen unverkennbar. Die Antilabwirkung wird so abgeschwächt, daß sie nicht mehr nachweisbar ist, wobei es unentschieden bleibt, ob das auf Unlöslichwerden der betreffenden Substanz oder auf Zerstörung beruht.[4]) Im Methylalkohol gelöst ist sie jedenfalls auch nicht nachweisbar, während die antitryptische Wirkung durch Methylalkohol nicht beeinträchtigt wird. Vorzugsweise ist das Antitrypsin in der methylalkoholunlöslichen Fraktion nachweisbar, nur ein kleiner Anteil des Antitrypsins geht in den Methylalkohol resp. in eine Mischung von gleichen Teilen Wasser und Methylalkohol über.

Aceton löst weder Antitrypsin noch Antilab. Trägt man das Serum in konzentriertes Aceton ein, so erhält man allerdings die Antikörper nur unvollständig im Niederschlag, jedoch immerhin so viel davon, daß das Defizit durch Unlöslichwerden eines Anteils am besten erklärt wird. Stellten wir Fraktionen

[1]) Oswald Schwarz, Über die Natur des Antitrypsins im Serum und den Mechanismus seiner Wirkung. Wiener klin. Wochenschr. 1909, Nr. 33.

[2]) Arch. f. Hygiene 67, 1908 und Zeitschr. f. Immunitätsforschung 3, 1909.

[3]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung 2, 1909.

[4]) Ob die vereinigten Fraktionen die Wirkung wieder aufweisen, soll noch geprüft werden.

durch Ausfällung mit verschieden konzentriertem Aceton dar, so wurde das Antitrypsin verzettelt, während das Antilab nirgends nachweisbar war. Jedoch muß man bedenken, daß die nur ziemlich schwache Antilabwirkung des Serums bei diesen Versuchen durch Verzettelung dem Nachweis sich entzogen haben kann.

Wasserstoffsuperoxyd und Salicylaldehyd schädigen die beiden Serumantikörper; Behandlung mit Säuren und Alkalien sowie mit Fermenten haben bisher keine Differenzen im Verhalten der beiden Antikörper ergeben, Versuche mit Sublimatfällung führten zu keinen klaren Resultaten.

Am aussichtsreichsten erscheint es bisher, die Methylalkoholversuche weiterzuführen. Aber auch nach anderen Richtungen sollen die Versuche im hiesigen Laboratorium fortgesetzt werden.

Versuchsbeispiele.

Benutzt wurde Trypsinum siccum (Grübler) und Lab purissimum (Witte).

Trypsin wurde nach Groß-Fuld, Lab nach Morgenroth bestimmt.

Die Hemmungskraft des Antitrypsins wird ausgedrückt durch die Serummenge, bei welcher grade unverdautes Eiweiß nachzuweisen ist. Der Antilabgehalt wird durch die Serummenge bezeichnet, bei der die Milch gerade ganz flüssig bleibt.

Wenn nichts anderes vermerkt ist, wird gehemmt:

Trypsin 0,0002 g,
Lab 0,0001 g.

Die hergestellten Serumpräparate werden immer auf das ursprüngliche Serum nach der Art der Darstellung umgerechnet.

I. Vergleich des dialysierten und im Vakuum getrockneten Serums mit dem ursprünglichen Serum:

	Ursprüngliches Serum	Dialysiertes und getrocknetes Serum
Trypsin gehemmt durch	0,005	0,005—0,006
Lab „ „	0,05—0,02	0,08—0,1

II. A. Hemmungskraft des mit Äther, Äthylalkohol, Methylalkohol behandelten Serumpulvers im Vergleich mit der des getrockneten Serumpulvers und untereinander.

B. Hemmungskraft der löslichen Fraktionen.

Getrocknetes Serumpulver (4 g resp. 6 g) werden im Soxhletschen Apparat je 6 Stunden mit wasserfreiem Äther extrahiert. Das ätherunlösliche Pulver hatte dann fast genau dasselbe Gewicht wie vor der Extraktion.

Das ätherunlösliche Pulver (2 g resp. 4 g) wird mit je 50 ccm absolutem Alkohol versetzt. Das Gemenge wird etwa 20 Minuten lang tüchtig durchgerührt und dann filtriert. Der alkoholunlösliche Rückstand hat nicht an Gewicht abgenommen. Der Alkohol wurde im Vakuum bei Temperaturen unter 30° eingedampft, der minimale Rückstand in Kochsalzlösung aufgenommen.

Das alkoholunlösliche Pulver (1 resp. 2 g) wird mit absolutem Methylalkohol (50 ccm) gemischt. Nach längerem Durchrühren wird filtriert. Bei der Behandlung mit Methylalkohol nimmt das Gewicht des Pulvers etwas ab. Das Filtrat wird wiederum im Vakuum eingeengt, der Rückstand in Kochsalzlösung aufgenommen.

III. In einer anderen Versuchsreihe wurde ursprüngliches Serumpulver (10 g) mit 50 ccm absolutem Methylalkohol gemischt, gut durchgerührt und nach 30 Minuten filtriert. Das Filtrat wird in der üblichen Weise eingetrocknet.

IV. Endlich wird in einer Versuchsreihe 1 g ursprüngliches Serumpulver mit 50 ccm Methylalkohol und 50 ccm destilliertem Wasser tüchtig durchgemischt und dann filtriert. Das Filtrat wird im Vakuum auf ca. 20 ccm eingedampft.

II. A.

	Serumpulver	Ätherunlösl. Pulver	Alkoholunlösliches Pulver	Methylalkoholunlösliches Pulver
1. Trypsin.				
1. Versuch 0,0002 gehemmt durch . .	0,001	0,001	0,001	0,0014–0,0015
2. Versuch 0,0001 gehemmt durch . .	0,00005	0,0005	0,0005–0,0001	0,003
2. Lab.				
1. Versuch 0,0001 gehemmt durch . .	0,005–0,004	0,005	0,005	0,005 } nicht gehemmt
2. Versuch 0,0001 gehemmt durch . .	0,01	0,005–0,01	0,05	0,05 } nicht gehemmt

II. B.

	Ätherlösl. Subst.	Alkohollösliche Substanz	Methylalkohollösliche Substanz
1. Trypsin 0,0002 nicht gehemmt durch	0,1	0,2	0,1
2. Lab 0,0001 „ „ „		0,2	0,2 nicht gehemmt

III.

	Serum-pulver	Methyl-alkohol-unlösliches Pulver	Methyl-alkohol-lösliches Pulver
1. Trypsin 0,0001 gehemmt durch . . .	0,001	0,001	0,02
		gehemmt	
2. Lab 0,0001 „ „ . . .	0,005	0,05	0,2
		nicht gehemmt	

IV.

	Serum-pulver	Methylalkohol + wasser-unlösliches Pulver	Methylalkohol + wasser-lösliche Substanz
1. Trypsin 0,0002 gehemmt durch	0,001	0,003—0,0025	—
„ 0,0001 „ „	—	—	0,025
2. Lab 0,0001 „ „	0,005–0,004	0,01 nicht gehemmt	—
„ 0,00001 „ „	—	—	0,05 nicht gehemmt

0,5 g Serumpulver werden in 10 ccm phys. Kochsalzlösung gelöst, die Lösung in 100 ccm Aceton eingetropft unter beständigem Rühren. Der Niederschlag wird mit 50 ccm Aceton gewaschen.

0,0001 Trypsin wird durch 0,005—0,003 des Niederschlages gehemmt,
0,0001 Lab „ „ 0,1 „ „ „

0,5 g Serumpulver werden in 10 ccm Kochsalzlösung gelöst und mit 10 ccm Aceton gemischt. Der Niederschlag wird mit 10 ccm Aceton + 10 ccm Wasser gewaschen und dann in 10 ccm Kochsalzlösung aufgenommen. Das Filtrat wird im Vakuum eingeengt und der Rückstand in 10 ccm Kochsalz aufgenommen.

	Niederschlag	Filtrat
Trypsin.		
1. Versuch 0,0001 gehemmt durch . . .	0,03	0,03
2. „ 0,0001 „ „ . . .	0,01—0,03	0,1
Lab.		
1. Versuch 0,0001 nicht gehemmt durch	0,1	0,1
2. „ 0,0001 „ „ „	0,1	0,1

10 ccm Serum werden mit 20 ccm Aceton gemischt, der Niederschlag mit einer entsprechenden Mischung gewaschen usw.

	Niederschlag	Filtrat
Trypsin.		
1. Versuch 0,0001 gehemmt durch . . .	0,02—0,03	0,1
2. „ 0,0001 „ „ . . .	0,03	0,05
Lab.		
1. Versuch 0,0001 nicht gehemmt durch	0,1	0,1
2. „ 0,0001 „ „ „	0,1	0,2

Die Wirkung der Mineralsalze auf die Atmung keimender Samen.

Vorläufige Mitteilung.

Von

W. Zaleski und A. Reinhard.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium der Universität Charkow.)

(Eingegangen am 14. November 1909.)

(Mit 16 Figuren im Text.)

Kellner[1]) war der erste, der gezeigt hat, daß Erbsenkeimlinge, die in 0,5%iger Kaliumnitratlösung kultiviert wurden, energischer als im destillierten Wasser atmen. Dann hat Jacobi[2]) nachgewiesen, daß außer Kaliumnitrat auch Natrium- und Kaliumchlorid die Atmungsenergie der Wasserpflanzen steigern, indem sie als Reize wirken. Die Salpetersäure wirkt nicht nur als Reiz auf die Atmung der Pflanzen, sondern steigert auch als Nährstoff die Atmung, da sie wahrscheinlich an der Eiweißsynthese Anteil nimmt.

Über die Wirkung des Calciums auf die Atmung der keimenden Samen berichtet Prianischnikow[3]). Dieser Forscher hat gezeigt, daß die Keimpflanzen von Vicia sativa einen größeren Trockensubstanzverlust zeigen, wenn man sie in destilliertem Wasser mit Gipszusatz statt in reinem Wasser kultiviert.

Den Einfluß des Calciums auf die Atmung der Keimlinge hebt auch Portheim[4]) hervor. Aus seinen Versuchen ist zu ersehen, daß die Keimpflanzen von Phaseolus multiflorus während der Kultur in voller

[1]) Kellner, Über einige chemische Vorgänge bei der Keimung von Pisum sativum. Landw. Vers.-Stat. 17, 408, 1874.

[2]) Jacobi, Über den Einfluß verschiedener Substanzen auf die Atmung und Assimilation submerser Pflanzen. Flora 86, 289, 1899.

[3]) Prianischnikow, Über den Eiweißzerfall bei der Keimung, 1895 (russ. Arbeit).

[4]) Portheim, Wiesner-Festschrift, 1908. Orientierende Untersuchungen über die Atmung gesunder und infolge von Kalkmengel erkrankter Keimlinge von Phaseolus multiflorus.

Nährlösung stärker atmen, als wenn man sie in derselben Lösung unter Calciumausschluß kultiviert.

Ausführlicher berichtet über die Wirkung der Salze auf die Atmung der Keimpflanzen Krzemieniewski[1]). Dieser Forscher kultivierte Rettichsamen einmal in voller Nährlösung, sodann in destilliertem Wasser, und studierte auch die Wirkung der Kalium- und Calciumsalze auf die Keimpflanzen, welche vorher im destillierten Wasser wuchsen. Aus seinen Versuchen hat der Verfasser den Schluß gezogen, daß Mineralsalze keinen Einfluß auf die Atmung der Samen in den ersten Stadien der Keimung derselben ausüben. Wenn aber die Keimpflanzen das Maximum der großen Atmungsperiode passiert haben, so erhöhen die Mineralstoffe, nämlich Kali und Salpetersäure, die Atmung derselben. So atmen die Kulturen der Keimpflanzen im destillierten Wasser, wenn man zu ihnen eine volle Nährlösung fügt, stärker, während der Zusatz derselben Nährlösung ohne Kalium keinen Einfluß auf die Atmung der Keimlinge ausübt. Daher schreibt der Verfasser dem Kalium den Einfluß der Nährlösung auf die Atmung der Keimpflanzen zu. Wir sehen aber weiter, daß Calciumnitrat allein die Atmungsenergie steigert, was der Wirkung der Salpetersäure zugeschrieben wird. Der Forscher vergißt wahrscheinlich, daß bei Kaliumausschluß aus der Nährlösung die Salpetersäure noch als Calciumnitrat vorhanden ist und dennoch die Atmung der Keimlinge keine Steigerung erfährt. Es ist also klar, daß ein und dasselbe Salz je nach seiner Kombination mit anderen Salzen verschieden wirkt, und deswegen können wir nicht die Frage lösen, wie das Salz auf die Atmung wirkt, wenn wir es aus der vollen Nährlösung ausschließen.

Die Versuche von Krzemieniewski sind überhaupt nicht immer überzeugend, da nur eine Erneuerung derselben Nährlösung eine so starke Steigerung der Atmungsenergie verursacht (Versuch 1), wie sie nie in den anderen Versuchen des Verfassers hervortritt, in welchen er den Einfluß des Kaliums und der Salpetersäure auf die Atmung der Keimpflanzen zu beweisen suchte.

Der Autor selbst sagt auch, daß allein schon die Hinzufügung von destilliertem Wasser die Energie der Atmung steigert.

Auch der Schluß des Verfassers, daß Mineralsalze keinen Einfluß auf die Atmung der Keimpflanzen in den ersten Stadien der Keimung ausüben, ist durch seine Versuche unbewiesen geblieben.

Die gegenwärtige Mitteilung hat den Zweck, die Wirkung der Mineralsalze auf die Atmung der keimenden Samen in verschiedenen Stadien dieses Prozesses zu studieren, sowie den Einfluß derselben auf den Charakter der Atmungskurve zu verfolgen.

Über einige andere Fragen dieses Themas gedenken wir eine ausführliche Mitteilung etwas später zu machen.

---

[1]) Krzemieniewski, Über den Einfluß von Mineralsalzen auf den Verlauf der Atmung bei keimenden Samen. Bull. Acad. Cracovie Mars 1902.

Unsere Versuche wurden mit Samen von Lupinus angustifolius, Zea Mais und Pisum sativum ausgeführt.

Die Samen wurden in den Lösungen einiger Salze oder einer bestimmten Kombination derselben und sodann auch in destilliertem Wasser eingeweicht. Um das Eindringen der Salze zu beschleunigen, wurden in einigen Versuchen die in destilliertem Wasser eingeweichten Samen vorher entschält und dann in den entsprechenden Lösungen keimen gelassen. Nach einer gewissen Zeit wurden die Keimlinge aus den Lösungen herausgenommen, sorgfältig abgewaschen und zur Wasserkultur benutzt. Zu diesem Zwecke wurden sie auf Glaszylinder von 3 l Inhalt gesetzt, die mit derselben Lösung gefüllt waren, in welcher sich die Samen vorher befanden. Die Lösungen wurden, wenn der Versuch längere Zeit dauerte, alle 3 bis 5 Tage erneuert. Die Versuche wurden im Dunkel und nur zum Teil bei schwachem Lichte ausgeführt.

Zur besseren Übersicht wurden die Versuchszahlen durch Kurven dargestellt. Auf den Abszissen der Kurven wurden die Tage des Versuchs, auf den Ordinaten die von 100 Keimpflanzen pro Stunde produzierte Kohlensäure in Milligrammen eingetragen. Die kontinuierlich gezeichneten Linien beziehen sich auf die Pflanzen, die sich in destilliertem Wasser befanden, während die anders eingetragenen Kurven auf die Atmung der einer Salzwirkung ausgesetzten Pflanzen hindeuten.

Andere Versuche haben den Zweck, den Einfluß der Salze auf die Atmung der Pflanzen, welche das Maximum der Atmungskurve überschritten hatten, zu studieren. In diesem Falle wurden die Keimlinge von Anfang an in destilliertem Wasser kultiviert, und erst nach dem Sinken der Atmungsenergie wurden sie der Wirkung eines bestimmten Salzes oder einer Kombination derselben 24 Stunden lang ausgesetzt.

In allen Versuchen bediente man sich destillierten Wassers, welches aus gläsernen Gefäßen abdestilliert wurde.

Zur Bestimmung der von den Pflanzen produzierten Kohlensäure wurde stets eine gleiche Anzahl von Keimlingen genommen. Die Kohlensäure wurde in Pettenkoferschen Röhren absorbiert und dann in üblicher Weise bestimmt.[1])

[1]) Pfeffer, Über intramolekuläre Atmung. Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen, 1, 1881—1885.

Unsere ersten Versuche hatten den Zweck, den Einfluß der vollen Knopschen Nährlösung auf den Verlauf der Atmung der keimenden Samen zu verfolgen.

1. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 30. I. in destilliertem Wasser und sodann in Knopscher Lösung [4 g $Ca(NO_3)_2$, 1 g 1 g KNO_3, 1 g $MgSO_4$, 1 g KH_2PO_4, 0,01 g Fe_2Cl_6 in 1 l H_2O] eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	Knopsche Lösung
31. I.	15	11	9
2. II.	15	17	13
4. „	17	27	13
6. „	17	46,2	43,2
10. „	17	46,6	40
13. „	17	30	23,2

2. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 5. II. in destilliertem Wasser und zugleich in Knopscher Lösung [1 g $Ca(NO_3)_2$, 0,25 g $MgSO_4$, 0,25 g KNO_3, 0,25 g KH_2PO_4, 0,01 g Fe_2Cl_6, 1 l H_2O] 10 mal verdünnt, eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	Knopsche Lösung
7. II.	16	21	—
8. „	15,5	21,2	21,8
9. „	14	27,8	—
10. „	15	41,6	45
12. „	15	41,7	46,6
13. „	15	43,3	40
14. „	15	35	33,3

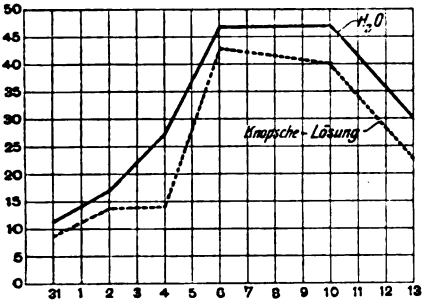
3. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 12. IX. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in 1. H_2O, in 2. Knopsche Lösung [1 g $Ca(NO_3)_2$, 0,25 g KNO_3, 0,25 g $MgSO_4$, 0,25 g KH_2PO_4, 0,01 g Fe_2Cl_6, 1 l H_2O) benutzt.

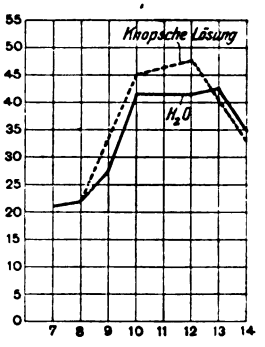
CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	Knopsche Lösung
19. IX.	15	36,6	41,6
21. „	15	40	53,3
23. „	14,5	38,3	46,6
24. „	14	35	40

Im 1. Versuche entwickelten sich die Keimlinge infolge der starken Konzentration der Lösung schwach und zeigten Erkrankungen, welche sehr bald an den Wurzeln zu sehen waren. Zu gleicher Zeit bemerkten wir eine Schwächung der Energie der Atmung, die sich deutlich durch die niedrigere Kurve zeigt (Kurve 1).



Kurve 1.



Kurve 2.

Wir sehen aber, daß die Atmungsenergie der Keimlinge in einer schwächeren Konzentration der Knopschen Lösung als im 1. Versuche im Vergleich mit Wasserkulturen eine höhere ist. Jedoch beginnt die Wirkung der Salzlösungen erst mit einer bestimmten Konzentration derselben. So wirkt z. B. die sehr verdünnte Knopsche Lösung (2. Versuch) gering, indem sie die Atmungsenergie der Keimlinge nur sehr schwach steigert. Im Gegensatz beobachteten wir im 3. Versuch eine große Steigerung der Atmungsenergie.

Infolge der Anwesenheit der Salze nützt die Pflanze ihre Reservestoffe besser aus, was aus folgendem Versuche, der in unserem Laboratorium gemacht wurde, zu ersehen ist.

	100 Keimlinge		Cotyledonen		Achsenorgane	
	H_2O	Knopsche Lösung	H_2O	Knopsche Lösung	H_2O	Knopsche Lösung
Trockengewicht .	11,1566	10,8897	5,5877	4,8859	5,5689	6,0038
Eiweiß-N	0,3704	0,3630	0,2229	0,1859	0,1475	0,1771

Wir bemerken in den Keimlingen auf der Knopschen Lösung einen größeren Trockensubstanzverlust und einen energi-

scheren Abbau der Eiweißstoffe als in den Keimlingen, die in destilliertem Wasser kultiviert wurden.

Die Salze steigern außerdem die Auswanderung der organischen Stoffe aus den Cotyledonen in die Achsenorgane, weil die letzteren reicher an Trockensubstanz und Eiweißstoffen sind.

Ferner beschleunigen Salze die enzymatischen Prozesse und wandern wahrscheinlich als organische Verbindungen in die Achsenorgane. Es ist nicht zu bezweifeln, daß sie an dem Aufbau der Protoplasten Anteil nehmen, wodurch sich das energischere Wachstum der Keimlinge in der Knopschen Lösung und die schwache Wirkung der verdünnten gleichen Lösungen erklären.

Wenden wir uns jetzt zur Untersuchuung des Einflusses der einzelnen Salze auf den Verlauf der Atmung der keimenden Samen, indem wir die Lösungen der Salze und die Kombinationen derselben hauptsächlich in jenen Konzentrationen nehmen, in welchen sie sich in den oben angeführten Knopschen Lösungen befinden.

4. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 2. X. einerseits in destilliertem Wasser und andererseits in Magnesiumsulfatlösung (0,1 %ig) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	$MgSO_4$ 1 %ig
3. X.	14	8	9,3
4. „	16	12,6	12
7. „	16	40	43,2
9. „	17	46,6	40
11. „	15,5	46,6	36,6

5. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 16. X. wie oben in destilliertem Wasser und in Kaliumnitratlösung (0,1 %ig) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KH_2PO_4 0,1 %
17. X.	16	8	9
18. „	17	16	14,4
20. „	15	26	24
22. „	15	50	40
24. „	16	43,2	40
26. „	17	40	33,2

6. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 2. X. wie oben in destilliertem Wasser und in Kaliumnitratlösuug (0,1%) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,1%
3. X.	15	8	10
4. „	16	12,6	10
7. „	16	40	46,6
9. „	17	46,6	43,2
11. „	15,5	46,6	36,6
13. „	16	44	36

7. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 2. I. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser und in Kaliumnitratlösung (0,1%) benutzt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,1%
5. I.	16	18,4	16,8
7. „	17	23,2	23,8
8. „	15	35	35
12. „	15	50	40,1
14. „	15	42,8	38,8

8. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 6. IV. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 7. IV. entschält und zu den Kulturen in 1. Wasser, in 2. 0,02%ige Kaliumnitratlösung und in 3. 0,02%ige Magnesiumsulfatlösung benutzt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,02%	$MgSO_4$ 0,02%
8.IV.	14,5	17	17	17
11. „	14	38,3	38,3	38,3
13. „	14	38,3	38,3	30
15. „	15	46,5	46,6	30
17. „	15,5	36	37	—

9. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 22. I. in destilliertem Wasser und in Kaliumnitratlösung (0,02%) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,02%
23. I.	15	9	8,5
24. „	15,5	9,5	10,5
29. „	15	44	38,2
31. „	15	50	40

10. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 30. I. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in 1. Wasser und zu denen in 2. Kaliumnitratlösung (0,02%) benutzt. Die Versuche wurden bei schwacher Beleuchtung ausgeführt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,02%
6. II.	16,5	50	50
8. „	15	52,2	52
11. „	15	45,4	45,4
14. „	15	40	39,4
21. „	16	27,5	23,3

11. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 28. IX. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser und Magnesiumsulfat (0,002%) benutzt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	$MgSO_4$ 0,002%
3. X.	13	35	36
5. „	14	40	43,3
6. „	15	48,3	48,3
7. „	14,5	45	40
9. „	15,5	36,3	33,4

12. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 16. X. in destilliertem Wasser und in Calciumnitratlösung (0,4%) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	$Ca(NO_3)_2$ 0,4%
17. X.	16	8	9
18. „	17	16	14
20. „	15	26	19
22. „	15	50	46,6
24. „	16	43,2	46,6
26. „	17	40	43,2

13. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 28. IX. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in 1. Wasser und in 2. Calciumnitratlösung (0,1%) benutzt.

Datum	Temperatur	Wasser	$Ca(NO_3)_2$ 0,1%
3. X.	13	35	36,6
5. „	14	40	46,7
6. „	15	48,3	50
7. „	14,5	45	41,6
9. „	15,5	36,3	33,3

14. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 18. I. in destilliertem Wasser und in Calciumnitratlösung (0,05%) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	$Ca(NO_3)_2$ 0,05%
20. I.	15	19,4	16,4
21. „	14,5	23	18,9
24. „	12,5	31,6	40
25. „	13,5	36,6	41,6
26. „	13,5	36,6	60
27. „	16	45	50
28. „	15	36,6	41,6
31. „	12,5	23,3	23,3

15. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 3. IV. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 4. IV. entschält und zu den Kulturen in Wasser und in Calciumnitratlösung (0,05%) benutzt.

CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	$Ca(NO_3)_2$ 0,05%
7. IV.	14	19,5	23
9. „	14	36,3	43,3
10. „	14	40	45
12. „	14	41,6	46,6
13. „	14	33,3	40
14. „	14,5	33,3	36,6

16. Versuch.

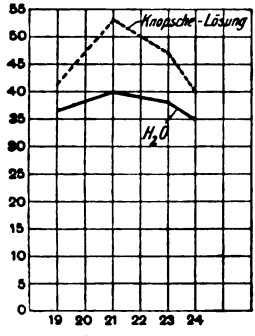
Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 15. X. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in 1. Wasser,

in 2. Knopsche Lösung[1]) und 3. dieselbe Knopsche Lösung unter $Ca(NO_3)_2$-Ausschluß benutzt.

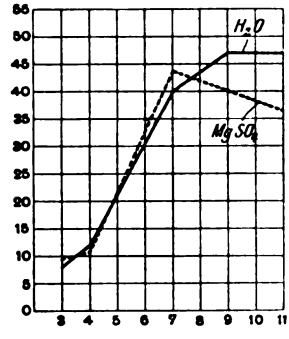
CO_2 für 100 Keimlinge pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	Knopsche Lösung	Knopsche Lösung — $Ca(NO_3)_2$
22. X.	15	36,6	41,6	40
24. „	15	40	53,3	48,3
26. „	14,5	38,3	46,6	40
28. „	14	35	40	38,3

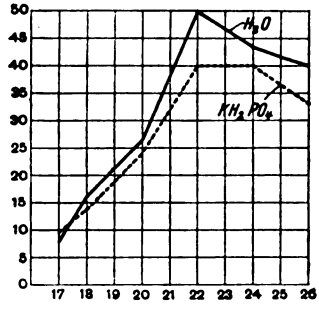
$MgSO_4$, KH_2PO_4 und KNO_3 in der Konzentration 0,1% (4., 5., 6., 7. Versuch) wirken ähnlich der starken Knopschen



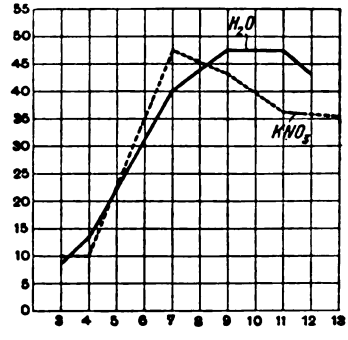
Kurve 3.



Kurve 4.



Kurve 5.



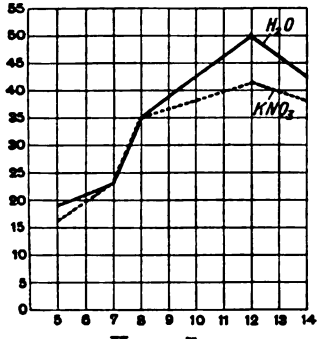
Kurve 6.

Lösung, indem sie fast in allen Stadien der Kurve die Energie der Atmung erniedrigen. In diesem Falle hängt dieses Resultat von einer Schwächung des Wachstums und einer Erkrankung der

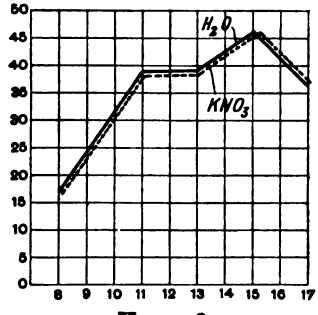
[1]) 1 g $Ca(NO_3)_2$, 0,25 g KNO_3, 0,25 g $MgSO_4$, 0,25 g KH_2PO_4, 0,01 g Fe_2Cl_6, 1 l H_2O.

Keimlinge ab, welche besonders in den Lösungen von Magnesiumsulfat zu bemerken ist.

In den Konzentrationen 0,02% der erwähnten Salze tritt ein Unterschied zwischen der Wirkung von Magnesium und Kalium auf (8. Versuch). So erniedrigt Magnesium sogar in schwachen Konzentrationen die Energie der Atmung bemerkens-



Kurve 7.

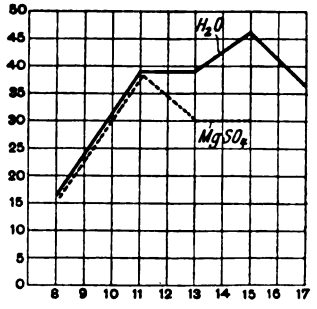


Kurve 8.

wert, während Kalium in diesen keinen Einfluß auf den Charakter der Kurve übt (Kurve 8). Selbst Kalium erniedrigt in dieser Konzentration die Energie der Atmung, wenn die Samen von Anfang an in der Lösung von Kaliumnitrat eingeweicht werden (9. Versuch).

Es gelingt selbst dann nicht, die Atmung zu erhöhen und den Charakter der Atmungskurve unter dem Einflusse von 0,02%iger KNO_3 zu verändern, wenn die Keimlinge schon bedeutend entwickelt sind und sich nahe dem Maximum der Kurve befinden (10. Versuch).

In der Magnesiumsulfatlösung wachsen die Keimlinge sehr schwach. Die schädliche Wirkung dieses Salzes wird deutlich bemerkbar am Ende des Versuchs, welchen man infolge des Absterbens der Keimlinge einstellen muß (8. Versuch, Kurve 9).



Kurve 9.

Man muß jedoch bemerken, daß die Erkrankung der Keimlinge nicht immer parallel mit der Schwächung der Atmungsenergie geht, wie aus folgendem Versuche zu ersehen ist.

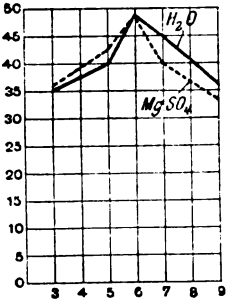
17. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 5. I. einerseits in destilliertem Wasser und andererseits in Citronensäure (0,01 %) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	Citronensäure 0,01 %
6. I.	14	7	8
7. „	14	8,5	9
8. „	16	23	24
10. „	16	40	40

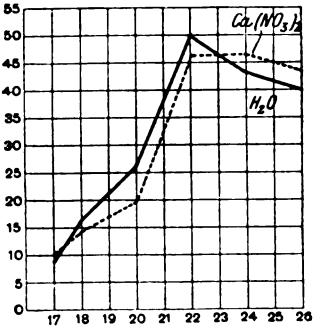
Die Citronensäure wirkt in der gegebenen Konzentration schädlich auf die Keimlinge, welche am Ende des Versuchs zu sterben beginnen, wodurch die Möglichkeit, den Versuch fortzusetzen, genommen wird. Dessenungeachtet ist die Energie der Atmung der Keimlinge ganz gleich derjenigen der in Wasser gezogenen Objekte.



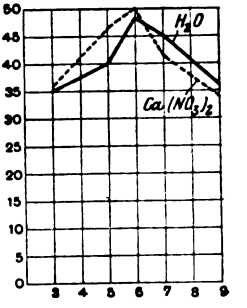
Kurve 10.

Sogar in einer sehr schwachen Konzentration (0,002 %) von $MgSO_4$ (11. Versuch, Kurve 10) bemerken wir keine Steigerung der Atmungsenergie. Diese schwache Konzentration der Lösung wirkt auf die Keimlinge nicht schädlich, da das Wachstum derselben keineswegs geringer als in destilliertem Wasser, vielleicht sogar größer ist.

Ein anderes Resultat erhalten wir bei der Wirkung des Calciumnitrats auf die Keimlinge. Dieses Salz erniedrigt in einer



Kurve 11.



Kurve 12.

Konzentration von 0,4% (12. Versuch, Kurve 11) die Energie der Atmung der Keimlinge vom Anfang der Keimung an bis zum Maximum der Kurve, worauf sich ihre Atmung in der Lösung des Calciumnitrats sogar höher als die im Wasser hält.

0,1% Calciumnitrat (13. Versuch) steigert die Energie der Atmung der Keimlinge, obgleich in geringerem Maße und nicht während des ganzen Verlaufes der Kurve als die volle Knopsche Lösung, welche Calciumnitrat in derselben Konzentration enthält. Wir sehen weiter, daß die 0,05%ige Calciumnitratlösung eine so große Steigerung der Atmungsenergie der Keimlinge erzeugt, wie sie uns sogar bei Kultur in der Knopschen Lösung zu beobachten nie gelungen ist.

Diese befördernde Wirkung des Calciumnitrats schreiben wir dem Calcium zu, da Kaliumnitrat keine Steigerung der Energie der Keimlinge von Lupinus angustifolius verursacht.

Also aus allen Salzen, die einen Bestandteil der Knopschen Lösung bilden, steigert nur das Calciumnitrat die Atmungsenergie der keimenden Samen von Lupinus angustifolius.

Nach der Meinung einer ganzen Reihe von Forschern erscheint Calcium als Magnesiumantagonist, indem es die schädliche Wirkung desselben paralysiert.

Ziebenberg[1]) beobachtete, daß Calcium für jene Pflanzen notwendig ist, welche viel Magnesium enthalten, für die Samen aber, die arm an diesem Elemente sind, ist es nicht nötig. Auf Grund der Arbeiten seiner Schüler weist Loew[2]) auf die Existenz eines optimalen Verhältnisses $\frac{CaO}{MgO}$ für Wachstum und Entwicklung der Pflanzen hin. Auf diesen Standpunkt stellt sich auch Portheim[3]) und beweist, daß die beste Entwicklung der Keimlinge von Phaseolus vulgaris in dem Falle vor sich geht, wenn der Kalkfaktor = 2,78 ist. Die Erkrankung der Keim-

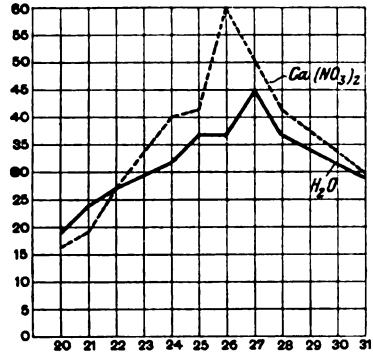
[1]) Ziebenberg, Untersuchungen über die Rolle des Kalkes bei der Keimung der Samen. Sitzungsber. d. Wien. Akad. 84, 1881.

[2]) Loew, The Relation of Zime and Magnesia to Plont Growth. Agr. Coll. Tokyo, 4, 381, 1902. Zit. nach Czapek, Biochem. d. Pflanzen. 2, 1905.

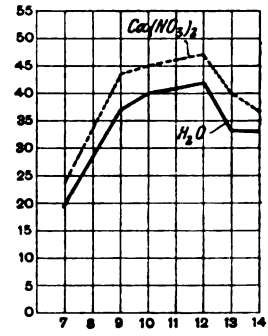
[3]) Portheim und Samec, Die Verbreitung der unentbehrlichen anorganischen Nährstoffe in den Keimlingen von Phaseolus vulgaris. Flora 99, 1909.

linge in destilliertem Wasser und besonders in der Lösung der Magnesiumsalze schreibt der Autor dem Umstande zu, daß die Samen dreimal reicher an Magnesium als an Calcium sind. Deswegen ist die Hinzufügung von Calcium notwendig, um die schädliche Wirkung der Magnesiumsalze zu beseitigen. Benecke[1]) aber meint, daß Calcium nicht nur die schädliche Wirkung des Magnesiums paralysiert, sondern auch die der anderen Salze, z. B. des Kaliums.

Die Untersuchungen von Schulze[2]) zeigen, daß die Kerne der Samen von Lupinus angustifolius zweimal mehr Magne-



Kurve 13.



Kurve 14.

sium als Calcium enthalten. Man könnte deswegen denken, daß die nützliche Wirkung der Calciumsalze auf ihrer entgiftenden Wirkung gegenüber dem Zuviel von Magnesium beruht.

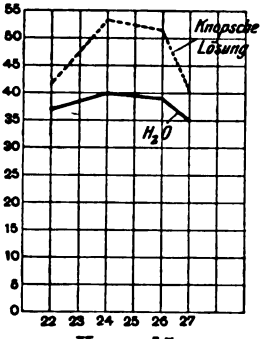
Von diesem Gesichtspunkte aus ist es möglich, daß eine 0,05 %ige Lösung von $Ca(NO_3)_2$ einen größeren Effekt als die Knopsche Lösung ausübt, indem sie ein besseres Verhältnis von $\frac{CaO}{MgO}$ darstellt. Diese Vermutungen bestätigen die folgenden Tatsachen nicht. Wir bemerken keine Erkrankung der Keimlinge in destilliertem Wasser, welche Portheim an den Keimlingen von Phaseolus vulgaris beobachtete, die Keimlinge wachsen auch in

[1]) Benecke, Über die Giftwirkung verschiedener Substanzen auf Spirogyra und ihre Entgiftung durch Calciumsalze. Ber. d. Deutsch. bot. Ges. 25, 1907.

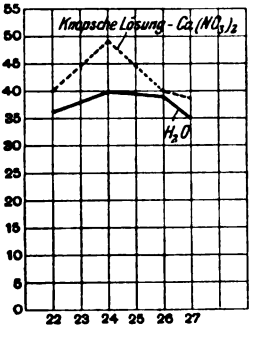
[2]) Schulze und Godet, Über den Calcium- und Magnesiumgehalt einiger Pflanzensamen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 58, 1908.

den schwachen Magnesiumlösungen gut. Obgleich der Ausschluß von Calciumnitrat aus der Knopschen Lösung ein Sinken der Atmungsenergie erzeugt, ist dieselbe doch merklich höher als in destilliertem Wasser (16. Versuch, Kurve 16).

Beim Ausschluß des Calciums aus der Knopschen Lösung, bleiben in der letzteren noch Salze, welche, jedes für sich, die Energie der Atmung erniedrigen; die Kombination derselben übt aber einen anderen Einfluß aus. Es ist klar, daß in dieser Kombination die schädliche Wirkung einzelner Salze paralysiert wird.



Kurve 15.



Kurve 16.

Nach den Untersuchungen von J. Loeb[1]) wird die schädliche Wirkung der einwertigen Kationen von den zweiwertigen aufgehoben und umgekehrt. So hat Osterhout[2]) gezeigt, daß man die schädliche Wirkung von $MgCl_2$ auf Spirogyra durch das Hinzufügen von Kaliumsalzen aufheben kann, obgleich Kalium als solches für diese Alge schädlich ist. Eine solche verbessernde Wirkung der Kombination von Salzen, welche einzeln schädlich wirken, hat Osterhout[3]) auch für die Keimlinge bewiesen. Unsere Versuche sprechen auch zugunsten einer solchen Erklärung.

Wenn wir zu anderen Pflanzen übergehen, bekommen wir andere Resultate. So steigert Kaliumnitrat die Energie der Atmung

---

[1]) J. Loeb, Physiologische Ionenwirkungen. Oppenheimers Handb. d. Biochem. d. Menschen u. d. Tiere, 1908.

[2]) Osterhout, zit. nach Portheim und Samec, l. c.

[3]) Osterhout, Die Schutzwirkung des Natriums für Pflanzen. Jahrb. f. wiss. Bot. 46, 1908.

der keimenden Samen von Zea Mais in der Konzentration, welche die Atmungsenergie der Keimlinge von Lupinus angustifolius bedeutend verminderte.

18. Versuch.

Die Samen von Zea Mais wurden am 19. X. in destilliertem Wasser und in Kaliumnitratlösung (0,1%) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,1%
20. X.	16	7	8,5
21. „	15	10,5	10
23. „	16	13,5	11
28. „	16	46,6	56,6

Wir geben jetzt nur das Tatsachenmaterial, indem wir uns der Erklärungen enthalten, für welche noch eingehendere Studien notwendig sind.

Die Salze können einen direkten, hauptsächlich aber einen indirekten Einfluß auf sogenannte Atmungsenzyme ausüben, indem sie auf den einen oder anderen physiologischen Prozeß, z. B. Stoffaustausch und Wachstum, mit welchen der Atmungsprozeß eng verbunden ist, wirken.

Zu einer richtigeren Beurteilung der Wirkung durch Kombination der Salze ist es notwendig, nicht nur die Verhältnisse derselben in der äußeren Lösung, sondern auch die Quantität der Salze in den Samen auf Grund genauer Analysen zu kennen, ohne auf die Samenschale zu achten, da das normale Leben möglich ist, wenn die notwendigen Salze sich in bestimmten Verhältnissen kombinieren, welche sich unter dem Einflusse der äußeren Lösung ändern können und müssen.

Bis jetzt haben wir den Einfluß der kontinuierlichen Wirkung der Salze auf die Atmung der keimenden Samen betrachtet; wenden wir uns jetzt zur Betrachtung ihrer kurzdauernden Wirkung auf denselben Prozeß.

Bei der nur kurze Zeit dauernden Wirkung können sogar schädliche Substanzen die Energie eines bestimmten Prozesses steigern, indem sie als Reize wirken.

Krzemieniewski[1]) behauptete, daß die Salze die Energie der Atmung beschleunigen, aber erst nach dem Sinken der

[1]) Krzemieniewski, l. c.

Atmungskurve; er hat die beschleunigende Wirkung hauptsächlich dem K und NO_3 zugeschrieben, indem er ihren ernährenden Einfluß hervorgehoben hat.

In unseren oben beschriebenen Versuchen mit den Samen von Lupinus angustifolius gelang es uns auch nicht, die Veränderung der Atmungsenergie im Anfang der Keimung unter dem Einflusse der Salze zu beobachten, und nur in starken Lösungen konnte man die Schwächung der Energie der Atmung bemerken.

Da die Samen Salze enthalten, so ist es a priori zu erwarten, daß die Konzentration der letzteren in der umgebenden Lösung in gegebenem Falle von Einfluß sein muß. Daher ist es notwendig, den Einfluß irgend eines Salzes in verschiedenen Konzentrationen auf die Samen zu erforschen.

Bei der Auswahl des Salzes blieben wir bei Kaliumnitrat stehen, weil Kellner[1]) gezeigt hat, daß dieses die Energie der Atmung auch in den ersten Stadien der Keimung erhöht.

Der Verfasser hat Erbsen in 0,5%iger Kaliumnitratlösung und zugleich in destilliertem Wasser 2 Tage eingeweicht. Dann legte er die Samen ins Wasser und bestimmte täglich die Energie der Atmung, welche sich für die aus der Salpeterlösung genommenen Samen stärker erwies, als für die aus Wasser. Bei Wiederholung der oben beschriebenen Versuche von Kellner konnten wir seine Resultate nicht bestätigen, wie aus folgenden Versuchen zu ersehen ist.

19. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum wurden am 18. IV. in destilliertem Wasser eingeweicht und am 20. IV. zu den Kulturen in Wasser und Kaliumnitratlösung (0,5%) benutzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,5%
21. IV.	15,5	26,5	25

20. Versuch.

Die Samen von Pisum sativum wurden am 21. IV. in destilliertem Wasser und zugleich in Kaliumnitratlösung (0,5%) eingeweicht.

[1]) Kellner, l. c.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,5%
22. IV.	16	14,5	16
23. „	16	16,5	16
24. „	15,5	20	19,3

Gehen wir jetzt zu unseren Versuchen über.

21. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 26. II. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 27. II. entschält und zu den Kulturen in 1. Wasser, in 2. Kaliumnitratlösung (0,1%), in 3. Kaliumnitratlösung (0,5%) benutzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,1%	KNO_3 0,5%
27. II. 2 Stunden nach der Anfeuchtung	16,5	10,5	10,5	10
28. II.	16	14	16,5	17,5
29. „	15,5	23	21,5	18

22. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 20. II. in destilliertem Wasser eingeweicht, am 21. II. entschält und zu den Kulturen in 1. Wasser, in 2. Kaliumnitratlösung (0,0001%), in 3. Kaliumnitratlösung (0,001%) benutzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 0,0001%	KNO_3 0,001%
22. II.	15,5	15,3	14	19,6
23. „	14,5	19,8	19,3	17,7

23. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 16. III. in destilliertem Wasser und zugleich in Kaliumnitratlösung (1%) eingeweicht.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Datum	Temperatur	Wasser	KNO_3 1%
17. III.	15	6,5	6

Die Versuche mit anderen Salzen führen wir nicht an, weil die Resultate dieselben sind.

Kaliumnitrat verändert die Energie der Atmung der Samen von Lupinus angustifolius nicht, weder in starken noch in schwachen Konzentrationen bei 2 bis 24 bis 48 Stunden dauernder Einwirkung. Darum spielen die Salze in den ersten Stadien der Keimung der Samen keine Rolle als Atmungsreize.

Wenden wir uns jetzt zu den Versuchen mit kurzdauernder Wirkung der Salze nach dem Maximum der Atmung der Keimlinge. Die Samen wurden in diesen Versuchen in destilliertem Wasser bis zum Beginn des Sinkens der Atmungsenergie (12 bis 16 Tage) kultiviert, und erst darauf wurden die Keimlinge der Wirkung des einen oder des anderen Salzes im Verlaufe von 24 Stunden ausgesetzt. Zur leichteren Übersicht führen wir keine Kurven an, sondern nur die Zahlen, welche die Größe der Atmungsenergie im Wasser ausdrücken, und zugleich die Zahlen nach einer 24stündigen Einwirkung des Salzes.

24. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 6. IV. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 18. IV. wurden die Keimlinge der 24stündigen Einwirkung der Salze (KNO_3 und $MgSO_4$) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	KNO_3 0,02%	$MgSO_4$ 0,02%
16	35	35,1	35

Kaliumnitrat und Magnesiumsulfat erhöhen die Energie der Atmung in der Konzentration 0,02% nicht. In Anbetracht dessen wurden in allen folgenden Versuchen die Salze in stärkeren Konzentrationen genommen, die isoosmotisch einer 0,1%igen Kaliumnitratlösung waren.

25. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 20. II. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 4. III. wurden die Keimlinge der 24stündigen Einwirkung der Salze (KNO_3 und $MgSO_4$) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	KNO_3 0,1%	$MgSO_4$ (isoosmotisch 0,1% KNO_3
16	34	44	42

26. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 26. II. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 10. III. wurden die Keimlinge einer 24stündigen Einwirkung des Salzes (KH_2PO_4) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	KH_2PO_4 (isoosmotisch 0,1% KNO_3)
15,5	28,5	35

27. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 27. II. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 11. III. wurden die Keimlinge der 24stündigen Einwirkung des Salzes ($NaNO_3$) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	$NaNO_3$ (isoosmotisch 0,1% KNO_3)
15	25	32,2

28. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 6. III. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 18. III. wurden die Keimlinge der 24stündigen Einwirkung des Salzes (NaH_2PO_4) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen per Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	NaH_2PO_4 (isoosmotisch 0,1% KON_3)
15	32	36

29. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 3. IV. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 14. IV. wurden die Keimlinge der 24 stündigen Einwirkung des Salzes ($MgSO_4$) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	$MgSO_4$ (isoosmotisch 0,1 % KNO_3)
14	33,3	40

30. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 10. XII. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 21. XII. wurden die Keimlinge der 24stündigen Einwirkung des Salzes ($ZnSO_4$) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	$ZnSO_4$ 0,01 %
13	26,6	36,6

31. Versuch.

Die Samen von Lupinus angustifolius wurden am 6. IV. in destilliertem Wasser eingeweicht und dann zu den Kulturen in Wasser benutzt. Am 21. IV. wurden die Keimlinge der 24 stündigen Einwirkung des Salzes ($MgSO_4$) ausgesetzt.

CO_2 für 100 Keimpflanzen pro Stunde in Milligramm.

Temperatur	Wasser	$MgSO_4$ (isoosmotisch 0,1 % KNO_3)
16	18,4	21,8

Alle Salze (KNO_3, KH_2PO_4, $NaNO_3$, NaH_2PO_4, $MgSO_4$) in der Konzentration, die mit 0,1 % KNO_3 isoosmotisch ist, erhöhen die Energie der Atmung der Keimlinge nach dem Maximum im Gegensatze zu den Versuchen von Krzemieniewski, bei welchem nur K und NO_3 die Energie der Atmung steigern. Daraus kann man kaum von einer ernährenden Wirkung der Salze reden, wie es Krzemieniewski tut. Gegen die ernährende Bedeutung der Salze in diesem Falle spricht der Versuch mit Zinksulfat, welches auch die Energie der Atmung erhöhte.

Die ernährende Wirkung dieser Salze könnte sich auch in 0,02 %igen Lösungen äußern, wir sehen aber, daß sie in dieser Konzentration keinen Einfluß ausüben (24. Versuch). Diese Wirkung ist nur kurzdauernd, weil bei einer längeren Einwirkung dieser Salze, wie es aus früher beschriebenen Versuchen zu ersehen

ist, die Energie der Atmung fällt. Außerdem erhöhen diese Salze die Atmungsenergie nur in der Periode des Sinkens, weil sogar kurz vor dem Sinken der Kurve die kurzdauernde Wirkung von z. B. Kaliumnitrat keine Steigerung der Energie der Atmung erzeugt (10. Versuch). Aber mit dem Sinken der Atmungskurve wird die Reaktion auf die Wirkung der Salze allmählich schwächer infolge der Abnahme des Nährmaterials (31. Versuch). In diesen Versuchen spielen also die Salze die Rolle von Reizen.

Über das Schicksal der intravenös in den Organismus eingeführten Gelatine und über die dadurch bedingten Veränderungen des Blutes und des Harns.

Von

G. Buglia.

(Institut für experimentelle Physiologie der Kgl. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 8. Oktober 1909.)

(Mit 7 Figuren im Text.)

I. Ziel der Untersuchungen.

Bei den durch Einführung der natürlichen oder denaturierten Eiweißstoffe auf intravenösem oder enterischem und paraenteralem Wege angestellten Untersuchungen hat sich herausgestellt, daß in der Mehrzahl der Fälle ein Teil des eingeführten Proteins in den Geweben und im Blute zurückbleibt, um vielleicht nachher assimiliert zu werden, während ein anderer, je nach der Menge und Beschaffenheit des eingeführten Proteins mehr oder minder großer Teil durch die Nieren ausgeschieden wird. In einigen Fällen jedoch, z. B. bei Einführung von Säurealbumin (Myosin, Fibrin, Eieralbumin), Alkalialbumin (aus Eiweiß) und einigen vegetabilischen Eiweißstoffen beobachtet man ihren Übergang in den Harn auch dann nicht, wenn sie in großer Menge injiziert worden sind.[1]) Dasselbe ist der Fall bei den Eiweißstoffen des Blutserums, wenn sie in den Organismus eines Tieres derselben Gattung eingeführt werden, oder mit dem Blutserum von Tieren verschiedener Gattung, das vorher durch Erwärmen auf 58 und 60° C unschädlich gemacht worden ist.[2])

Das Studium des Schicksals der unverändert in den Organismus eingeführten natürlichen oder denaturierten Proteine

[1]) C. Lehmann, Pflügers Archiv 112, 339, 1906.

[2]) H. Friedenthal und Lewandowski, Arch. f. Anat. u. Physiol. 5/6, 531, 1899.

im allgemeinen kann jedoch, unabhängig von der Art und Weise des Verhaltens der zuletzt besprochenen Eiweißstoffe, die nach ihrer Einführung in den Organismus auf keinem Wege ausgeschieden werden, sich nicht nur auf die Art der Verteilung der Stoffe in den verschiedenen Organen und Geweben, auf den Assimilationsmechanismus, auf die mögliche Verwertung des Eiweißstoffes selbst oder die chemischen Modifikationen, die er beim Verdauungsprozeß erfahren kann, beziehen, sondern auch auf die Erscheinung der Exkretion des ganzen Eiweißstoffes oder des Teiles, der unverändert vom Organismus ausgeschieden wird.

Was den ersten Teil dieses Studiums betrifft, so haben die Untersuchungen Cramers[1]) (welche die Bedeutung der Leukocyten auf den Assimilationsmechanismus der auf paraenteralem Wege eingeführten Eiweißstoffe klar nachgewiesen haben), sehr zur Aufklärung dieser Frage beigetragen; ferner die jüngst veröffentlichten Untersuchungen von Freund und Popper[2]), weil sie die dem Darmrohr bei der Verwertung der nicht gespaltenen oder in den verschiedenen Graden der Spaltung begriffenen Eiweißstoffe zukommende Bedeutung sowie die Art der Verteilung des nach Unterbindung des Hylus der Niere direkt in das Blut injizierten Proteins zwischen den Geweben und Flüssigkeiten des Organismus zur Evidenz nachgewiesen haben.

Was aber die Erscheinung der Absonderung der in den Organismus eingeführten natürlichen oder einfach denaturierten Eiweißstoffe betrifft, so haben wir nur Angaben, die uns weder gestatten, zu einer genauen, ausführlichen Kenntnis der Erscheinung zu gelangen, noch uns bezüglich der eventuellen Veränderungen des normalen Funktionierens der den Organismus regulierenden Kräfte ein Urteil zu bilden. Deshalb bestand das Ziel dieser Untersuchungen darin, vor allem die Modifikationen der Nierenfunktion, die bei einigen physikochemischen Eigenschaften des Harns eintretenden Veränderungen und ihre Dauer in Beziehung zur Dauer der Veränderungen derselben physiko-chemischen Eigenschaften des Blutes nach intravenösen Injektionen von verschiedenen Mengen Gelatine

[1]) W. Cramer, Journ. of Physiol. 37, 146, 1908.

[2]) E. Freund und H. Popper, diese Zeitschr. 15, 272, 1909.

zu bestimmen. Da dieser nicht hydrolisierte Eiweißstoff dem Organismus fremd ist und besondere Merkmale (Gelifikation und hohe Viscosität) besitzt, so mußte er sich leicht im Blut und im Harn wieder nachweisen lassen.

II. Experimentelle Technik.

Bei meinen Experimenten verwendete ich Hunde, die vor Injektion der Gelatinelösung verschiedene (10 bis 12) Stunden gehungert hatten und dann normal ernährt wurden, wenn das Tier am Leben blieb und so das Experiment noch mehrere Tage nach der Injektion weitergeführt werden konnte.

Ehe ich die Gelatinelösung auf intravenösem Wege injizierte, fing ich eine Probe von normalem Arterienblut und eine Probe von Harn auf; weitere Proben von Blut und Harn sammelte ich dann in verschiedenen Zeitintervallen nach Einführung der Gelatine in den Organismus. Von diesen Proben von Harn und Serum, das ich aus dem sofort nach seiner Entnahme defibrinierten Blute erhalten hatte, bestimmte ich die Ausflußzeit (Ostwaldscher Viscosimeter bei 37° C) und die elektrische Leitfähigkeit (Kohlrauschscher Apparat bei 37° C), zuweilen auch den trockenen Rückstand des Serums und des Harns sowie das innerhalb einer bestimmten Zeit ausgeschiedene Harnvolumen.

Enthielt das Blut eine ziemlich bedeutende Menge Gelatine, so erfolgte die spontane Trennung des Serums von den roten Blutkörperchen noch ehe die Erstarrung eintrat. Daher waren, wenn die aufgefangene Blutprobe nach einer gewissen Zeit untersucht wurde, zwei Schichten zu unterscheiden: die untere durch die kompakte Masse der agglutinierten roten Blutkörperchen gebildete und die obere aus dem erstarrten Serum bestehende, das meistens so klar war, daß das Zentrifugieren überflüssig war.

Auch die nach und nach aufgefangenen Harnproben erstarrten oft bei der Temperatur der Umgebung; alsdann wurden sie im Wasserbad aufgetaut und in der Wärme filtriert, ehe die physiko-chemischen Konstanten bestimmt wurden. Bei vielen Experimenten war ich darauf bedacht, gleichzeitig zu untersuchen, ob in den verschiedenen Harnproben Eiweiß enthalten sei. Diese Untersuchung geschah durch leichtes Ansäuern des Harns mit Essigsäure und Erhitzen bis zum Sieden.

Die Gelatine (Nelsons Photographie-Gelatine Nr. 1, a/o 15,23 g Wasser und 1,8 g Aschenbestandteile enthaltend) wurde in Wasser oder in Kochsalzlösung gelöst und bei einer Temperatur von ca. 37° C in den Körper der Tiere eingeführt. Die Menge schwankte zwischen ungefähr 1 bis 2,3 g pro Kilo des Tieres.

Beim Auffangen des Harns verfuhr ich nach zwei Methoden. Bei einer ersten Reihe von Experimenten, deren Zweck hauptsächlich darin bestand, die Veränderungen der Nierenfunktion im allgemeinen kennen zu lernen und die Zeit zwischen dem Moment der Gelatineinjektion und

dem Auftreten der ersten Veränderungen in den physiko-chemischen Merkmalen des Harns zu bestimmen, verwendete ich Tiere, bei denen ich vorher eine einstweilige Fistel der Ureteren angelegt hatte. Bei einer zweiten Reihe von Experimenten dagegen, bei denen es für mich von Interesse war, die Intensität der Veränderungen des Harns und die Zeit ihres Bestehens kennen zu lernen, unterwarf ich das Tier keinem operativen Eingriffe, der die Zeit der Beobachtung hätte abkürzen können, sondern ich entnahm den Harn mittels eines Katheters.

III. Experimente.

A. Intravenöse Injektionen von Gelatinelösungen bei Tieren, bei denen eine Fistel der Harnleiter angelegt worden war.

I. Experiment (22. II. 09). Temperatur der Umgebung 12° C.

♂ Hund von 13,300 kg Körpergewicht, hungert seit 10 Stunden.

10^h 30′. Anlage der Fistel der Harnleiter von der Lendengegend aus.

11^h 40′. Die Kanülen werden in die Harnleiter eingeführt. Das Tier läßt keinen Harn.

11^h 50′. Injektion von 50 ccm einer 10%igen NaCl-Lösung in die rechte V. femoralis. Sogleich nach der Injektion fließt Harn aus den in die Harnleiter eingelegten Kanülen. Der von 11^h 50′ bis 12^h 25′ ausgeflossene Harn wird aufgefangen.

12^h. Ich entnehme eine Blutprobe (25 ccm) aus der rechten A. femoralis und defibriniere.

12^h 25′. Injektion von 100 ccm einer Gelatinelösung (20 g in 150 ccm einer 10%igen NaCl-Lösung in der Wärme aufgelöst) in die rechte V. femoralis.

Von 12^h 25′ bis 12^h 35′ wird der Harn aufgefangen: Linke Niere 11 ccm, rechte Niere 12,5 ccm.

12^h 34′. Entnahme einer zweiten Blutprobe.

Von 12^h 34′ bis 12^h 45′ wird der Harn aufgefangen: Linke Niere 12,1 ccm, rechte Niere 11,8 ccm.

Von 12^h 55′ bis 1^h 5′ Harn der linken Niere 11,3 ccm, der rechten 9,5 ccm.

Von 1^h 5′ bis 1^h 15′ Harn der linken Niere 8,2 ccm, der rechten 6,7 ccm.

Von 1^h 15′ bis 1^h 25′ Harn der linken Niere 6,1 ccm, der rechten 4,8 ccm.

Von 1^h 25′ bis 1^h 35′ Harn der linken Niere 4,4 ccm, der rechten 3,0 ccm.

1^h 34′. Entnahme einer dritten Blutprobe.

Von 1^h 35′ bis 3^h 45′ beträgt der aus den beiden Harnleitern fließende Harn insgesamt 2,0 ccm.

3^h 45′. Entnahme einer vierten Blutprobe.

3^h 50′. Das Tier gibt keinen Harn von sich.

3^h 55′. Injektion von 10 ccm einer 20%igen NaCl-Lösung in die rechte V. femoralis. Das Tier gibt keinen Harn von sich.

4h. Wiederholung der Injektion, idem.
6h. Entnahme einer fünften Blutprobe.
7h. Das Tier stirbt.
Injizierte Gelatine 1,0 g pro Kilo des Tieres.

Die bei Bestimmung der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit der verschiedenen Harn- und Blutserumproben, die bei diesem I. Experiment aufgefangen wurden, erhaltenen Werte sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt:

Experiment I (22. II. 09).

Harn

Harnprobe	Harnsammlung	Harnmenge in ccm (v) rechte Niere	linke Niere	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Sammlung d. einzelnen Harnproben	Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C des gemischten Harns	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C des gemischten Harns
1 (norm.)	11,50′—12,25′	?		—	opalescent	1′ 5″	$K = 251{,}2 \times 10^{-4}$
2	12,25′—12,35′	12,5	11,0 (23,5)	0,10′	flüssig, klar	1′ 9″	$K = 284{,}5 \times 10^{-4}$
3	12,35′—12,45′	11,5	10,0 (21,5)	0,20′	flüssig, hellgelb	—	$K = 272{,}6 \times 10^{-4}$
4	12,45′—12,55′	11,8	12,1 (23,9)	0,30′	„ „	1′ 10″	$K = 257{,}8 \times 10^{-4}$
5	12,55′—13,5′	9,5	11,3 (20,8)	0,40′	„ „	—	$K = 250{,}4 \times 10^{-4}$
6	13,5′ —13,15′	6,7	8,2 (14,9)	0,50′	„ „	1′ $9^2/_5$″	$K = 244{,}1 \times 10^{-4}$
7	13,15′—13,25′	4,8	6,1 (10,9)	1,0′	„ „	1′ $13^2/_5$″	$K = 247{,}6 \times 10^{-4}$
8	13,25′—13,35′	3,0	4,4 (7,4)	1,10′	„ „	1′ 17″	$K = 239{,}0 \times 10^{-4}$
9	13,35′—15,45′	(2,0)		3,20′	gallertartig	—	—

Experiment I (22. II. 09).

Blut

Blutprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Blutsammlung	Blutserum: Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Blutserum: Ausflußzeit (t) bei 37° C	Blutserum: Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	flüssig, opalescent	1′ 31″	$K = 177{,}3 \times 10^{-4}$
2	0,9′	gallertartig	2′ 7″	$K = 204{,}0 \times 10^{-4}$
3	1,9′	„	2′ 18″	$K = 196{,}5 \times 10^{-4}$
4	3,20′	„	2′ 10″	$K = 201{,}3 \times 10^{-4}$
5	5,35′	„	2′ $8^4/_5$″ ($H_2O = 0'\,57^2/_5''$)	$K = 223{,}7 \times 10^{-4}$

Aus den Daten der vorstehenden Tabellen ersieht man, daß nach Injektion von Gelatine eine fortschreitende Abnahme der Menge des von den Nieren abgesonderten Harns stattfindet, während die Ausflußzeit parallel zunimmt und die elektrische Leitfähigkeit des Harns abnimmt.

Beim Blutserum nehmen sowohl Ausflußzeit als auch elektrische Leitfähigkeit sofort nach der Injektion zu und haben noch 5 Stunden danach einen viel höheren als den normalen Wert, wenn auch um diesen Zeitpunkt herum Anzeichen vorhanden sind, daß die Ausflußzeit abnimmt.

Vom Harn erstarrt nur die 3 Stunden nach der Injektion aufgefangene Probe bei der Temperatur der Umgebung; dagegen erstarren alle Proben des Blutserums.

II. Experiment (16. II. 09). Temperatur der Umgebung 11° C.

♂ Hund. Gewicht 22,500 kg, hungert seit 2 Stunden.

2^h nachm. Fistel der Harnleiter.

$3^h 40'$. Einführung der Kanüle in den rechten Harnleiter. Der linke bleibt mit der Blase verbunden.

$3^h 52'$. Das Tier hat keinen Harn gelassen. Injektion von 50 ccm einer 10%igen NaCl-Lösung in die rechte V. femoralis. Sofort fließt Harn aus der in den Harnleiter eingeführten Kanüle.

Von $3^h 55'$ bis 4^h wird der rechten A. femoralis eine Blutprobe (30 ccm) entnommen und defibriniert.

Von $3^h 55'$ bis $4^h 30'$ Entnahme des aus dem rechten Harnleiter fließenden Urins.

Um $4^h 30'$ hat die Nierensekretion fast aufgehört.

Von $4^h 30'$ bis $4^h 32'$ werden in die rechte V. femoralis 150 ccm einer Gelatinelösung (in der Wärme in 150 ccm einer 10%igen NaCl-Lösung aufgelöste 25 g Gelatine) injiziert.

Die Absonderung wird sofort wieder aufgenommen.

In einem Gefäß wird der von $4^h 30'$ bis $4^h 35'$ gelassene Harn aufgefangen.

$4^h 40'$. Entnahme einer zweiten Blutprobe (30 ccm) aus der linken A. femoralis; das Blut wird defibriniert.

Von $4^h 35'$ bis $4^h 40'$ wird der aus dem Harnleiter kommende Harn aufgefangen.

Desgleichen von $4^h 40'$ bis $4^h 50'$.
„ „ $4^h 50'$ „ 5^h.
„ „ 5^h „ $5^h 20'$.
„ „ $5^h 20'$ „ $5^h 40'$.

$5^h 35'$. Entnahme einer dritten Blutprobe.

Von $5^h 40'$ bis $6^h 50'$ wird der Harn aufgefangen.

$6^h 50'$. Entnahme einer vierten Blutprobe.

Von $6^h 50'$ bis 8^h wird der Harn aufgefangen.

$7^h 50'$. Entnahme einer fünften Blutprobe.

Von 8^h bis $9^h 10'$ wird der Harn aufgefangen.

Von 9^h bis 10^h ist der Abfluß des Harns spärlich.

Die aufgefangene Flüssigkeit ist blutig und erstarrt sofort. — Das Tier ist stark dyspnoisch.

10^h. Entnahme einer siebenten Blutprobe.

Am Morgen des 17. wird der Hund tot aufgefunden.

Bei der mikroskopischen Untersuchung finden sich Hämorrhagien im Rindenteil der rechten Niere. In der linken Niere ebenfalls zahlreiche subkapsulare Hämorrhagien.

Injizierte Gelatine pro Kilogramm des Tieres 1,11 g.

Die folgenden Tabellen und Diagramme resümieren die bei diesem Experiment erhaltenen Resultate.

Die Diagramme wurden auf folgende Weise konstruiert: Auf der Abszisse wurde in Minuten die vom Ende der Injektion bis zur Entnahme der einzelnen Blut- und Harnproben verflossene Zeit angegeben, auf den Ordinaten beim 1. Diagramm die Ausflußzeit und die elektrische Leitfähigkeit der verschiedenen Harnproben und die Menge in Kubikzentimetern des alle 10 Minuten entleerten Harns, beim 2. Diagramm die Ausflußzeit und die elektrische Leitfähigkeit des Blutserums.

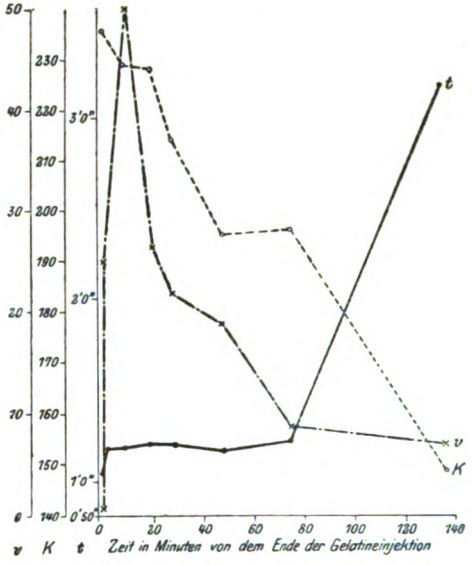
Experiment II (16. II. 09).

Harn							
Harnprobe	Harnsammlung	Harnmenge von dem rechten Harnleiter in ccm	Harnmenge in 10′ (v)	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Sammlung der einzelnen Harnproben	Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37°	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	15,55′—16,30′	5,0	1,5	—	opalescent, ohne Eiweiß	1′ $4^1/_5$″	$K=222{,}2\times10^{-4}$
2	16,30′—16,35′	12,5	25,0	0,3′	flüssig, klar	1′ $11^2/_5$″	$K=237{,}7\times10^{-4}$
3	16,35′—16,40′	25,0	50,0	0,8′	mit Hefe	1′ 11″	$K=229{,}1\times10^{-4}$
4	16,40′—16,50′	26,5	26,5	0,18′	idem	1′ $13^4/_5$″	$K=228{,}5\times10^{-4}$
5	16,50′—17′	21,5	21,5	0,28′	idem	1′ $13^3/_5$″	$K=213{,}0\times10^{-4}$
6	17′ —17,20′	38,1	19,0	0,48′	idem	1′ $11^3/_5$″	$K=197{,}0\times10^{-4}$
7	17,20′—17,40′	16,5	8,25	1,8′	halbflüssig	1′ $16^1/_5$″	$K=197{,}5\times10^{-4}$
8	17,40′—18,50′	7,5	7,5	2,18′	gallertartig, mit roten Körperchen	3′ 13″	$K=149{,}0\times10^{-4}$
9	18,50′—20′	—		—	idem	—	
10	20′ —21,10′	—		—	idem	— (H_2O = 0′ $57^3/_5$″)	

Experiment II (16. II. 09).

Blut				
Blutprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zur Blutsammlung	Blutserum		
		Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	opalescent	1′ $2^1/_5$″	$K=162{,}6\times10^{-4}$
2	0,8′	opalescent gallertartig	2′ $10^3/_5$″	$K=208{,}6\times10^{-4}$
3	1,3′	„ „	2′ 21″	$K=260{,}3\times10^{-4}$
4	2,18′	„ „	2′ 13″	$K=205{,}2\times10^{-4}$
5	3,18′	„ „	2′ 8″	$K=214{,}5\times10^{-4}$
6	4,28′	„ „	2′ 1″	$K=241{,}9\times10^{-4}$
7	5,28′	„ „	1′ $59^2/_5$″	$K=276{,}5\times10^{-4}$

Die Resultate dieses II. Experiments bestätigen die des vorhergehenden; in der Tat waren die experimentellen Bedingungen nicht



Kurve 1.

Kurve 2.

sehr verschieden. Die in 10 Minuten entleerte Menge Harn nimmt sogleich nach der Gelatineinjektion zu (die in 10%iger NaCl-Lösung gemacht wurde) dann nimmt sie ganz allmählich ab; dennoch

ist auch 2 Stunden nach der Injektion die in 10 Minuten entleerte Menge Harn immer noch größer als die in der gleichen Zeit vor der Gelatineinjektion entleerte.

Die elektrische Leitfähigkeit zeigt eine starke Zunahme. Dies erklärt sich leicht, wenn man bedenkt, daß die elektrische Leitfähigkeit der bei diesem Experiment injizierten Gelatinelösung viel größer war als die des Blutes, während die Abnahme der elektrischen Leitfähigkeit des Harns, wie man auch bei vielen anderen Experimenten bemerken wird, über die ich noch berichten werde, wahrscheinlich von der enormen Menge Kolloid (Gelatine) abhängt, die sich nun im Harn befindet. Als eine der hauptsächlichsten Ursachen der Zunahme der elektrischen Leitfähigkeit des Serums, die wir bei vielen anderen Experimenten zu beobachten Gelegenheit haben werden, sind — wie wir schon jetzt bemerken wollen — die Injektionen von stark konzentrierten NaCl-Lösungen zu betrachten, die gemacht wurden, um die Harnabsonderung zu fördern.

Alle Blutproben, die bei diesem II. Experiment nach der Injektion der Gelatine gemacht wurden, zeigen ein erstarrtes Serum; von den Harnproben dagegen erstarren nur die ca. 1 Stunde nach der Injektion aufgefangenen.

Die Probe auf Eiweiß im Harn ergab ein negatives Resultat.

III. Experiment (1. II. 09). Temperatur der Umgebung 14° C.

♂ Hund von 18,000 kg Körpergewicht; hungert seit 11 Stunden.

$2^h 45'$ nachm. Bilaterale Fistel der Harnleiter.

Von $3^h 17'$ bis $3^h 32'$ wird der Harn der rechten und der linken Niere aufgefangen; insgesamt beträgt er 40 ccm.

Von $3^h 22'$ bis $3^h 24'$ wird eine Blutprobe (30 ccm) der rechten A. femoralis entnommen und defibriniert.

Von $3^h 22'$ bis $3^h 35'$ wird der Speichel aufgefangen, der klar und zähe aus dem Maule des Tieres herausfließt.

Von $3^h 38'$ bis $4^h 5'$ werden in die rechte V. femoralis 162 ccm einer Gelatinelösung (50 g Gelatine in der Wärme in Wasser bis zum Volum von 200 ccm aufgelöst) injiziert.

Von $3^h 32'$ bis $4^h 42'$ wird der Harn der beiden Nieren aufgefangen, aus der rechten 0,5 ccm, aus der linken 4,0 ccm. Die beiden Mengen werden vermischt.

Von $4^h 9'$ bis $4^h 12'$ entnehme ich eine 2. Blutprobe (30 ccm) aus der rechten A. femoralis und defibriniere.

Von $4^h 14'$ bis 5^h fließt aus den Harnleitern kein einziger Tropfen Flüssigkeit ab.

Von $5^h 5'$ bis $5^h 10'$ werden in die rechte V. femoralis 25 ccm einer 20%igen Harnstofflösung injiziert.

Um $5^h 30'$ folgt Entnahme einer 3. Blutprobe.

Von $5^h 35'$ bis $5^h 42'$ weitere Injektion von 50 ccm einer 20%igen Harnstofflösung.

Die von 5^h bis $5^h 35'$ aufgefangene Menge Harn beträgt 0 Tropfen für die rechte und 3 Tropfen für die linke Niere.

Von 6^h bis $6^h 30'$ wird eine 3. Speichelprobe entnommen.

Von $6^h 35'$ bis $6^h 40'$ injiziere ich in die rechte V. femoralis 50 ccm einer 20%igen NaCl-Lösung.

$6^h 45'$. Sowohl aus dem linken als aus dem rechten Harnleiter beginnt ein dicker, sehr klarer Harn zu tröpfeln, aus dem linken 12 Tropfen, aus dem rechten 7 Tropfen in der Minute. Der aus der rechten Niere kommende Harn erstarrt kurze Zeit nach der Entnahme. Der aus beiden Nieren stammende Harn wird vermischt und in einem einzigen Gefäß aufbewahrt.

$7^h 5'$. Entnahme einer 4. Blutprobe (30 ccm); das Blut wird defibriniert.

$7^h 25'$. Die linke Niere sondert in der Minute 7 Tropfen ab, die rechte 4 Tropfen.

Der von 7^h bis $7^h 30'$ aus den Harnleitern fließende Harn wird getrennt in zwei Gefäßen aufbewahrt. Davon hat die rechte Niere 6 ccm geliefert (der nach kurzer Zeit erstarrt ist), die linke 14 ccm.

$7^h 35'$. Das Tier hat Erbrechen.

Der von $7^h 30'$ bis $7^h 50'$ aufgefangene Harn beträgt 9,5 ccm für die rechte, 12,5 ccm für die linke Niere. Ersterer ist zum Teil erstarrt. Die beiden Harnproben werden getrennt aufbewahrt.

$8^h 50'$. Ich entnehme eine 5. Blutprobe (30 ccm) und defibriniere.

9^h morgens. 2. II. 09. Temperatur der Umgebung.

Das Tier, das während der Nacht in wollene Tücher gehüllt auf dem Ausspannapparat gelegen hat, befindet sich in komatösem Zustand. Die Herzschläge sind sehr schwach; bei der Betastung fühlt man kaum den Puls der A. femoralis. Es ist kein Speichel abgeflossen; die Schleimhaut der Lippen ist trocken.

Der während der Nacht in zwei etwas Vaselinöl enthaltenden Gefäßen aufgefangene Harn beträgt 1 ccm für die linke und 32 ccm für die rechte Niere. Ersterer ist erstarrt, letzterer ist sehr dick und nur teilweise erstarrt.

Aus dem linken Harnleiter fließt keine Flüssigkeit, aus dem rechten 2 Tropfen in 5'.

$9^h 30'$. Ich entnehme eine weitere Blutprobe und defibriniere.

$11^h 40'$. Das Tier stirbt.

Bei der nekroskopischen Untersuchung zeigt sich makroskopisch nichts Abnormes, weder in den Nieren noch in den anderen Organen.

Injizierte Gelatine 2,20 g pro Kilogramm des Tieres.

Die Tabellen und die ihnen folgenden Diagramme geben eine Zusammenstellung der bei Bestimmung der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit des Harns und des Blutserums erhaltenen Resultate.

Experiment III (1. II. 09).

Harn

Harnprobe	Harnsammlung	Harnmenge in ccm (v)		Zeit (in Std.) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Sammlung der einzelnen Harnproben	Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)		Ausflußzeit (t) bei 37° C		Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C	
		rechte Niere	linke Niere		rechte Niere	linke Niere	Harn der rechten Niere	Harn der linken Niere	Harn der rechten Niere	Harn der linken Niere
1 (norm.)	15,17′—15,32′	4,5		—	flüssig klar	flüssig klar	1′ 5″		$K = 336{,}0 \times 10^{-4}$	
2	15,32′—16,42′	0,5	4,0	0,38′	„	„	—		$K = 280{,}0 \times 10^{-5}$	
3	17,0′—19,0′	—	—	2,55′	gallertartig	gallertartig	5′ 47⁴/₅″		$K = 80{,}9 \times 10^{-4}$	
4	19,0′—19,30′	6,0	14,0	3,25′	„	„	4′ 43″	1′ 53″ (3′ 18″)	545,4	574,7 (560,0)
5	19,30′—20,50′	9,5	12,5	4,45′	„	„	2′ 1″	1′ 41″ (1′ 51″)	406,2	380,7 (393,4)
6	20,50′—9,0′	32,0	1,0	15,0′	halb flüssig	„	1′ 30″ ($H_2O = 0'\,57^3/_5''$)		723,2	

Experiment III (1. II. 09).

Blut

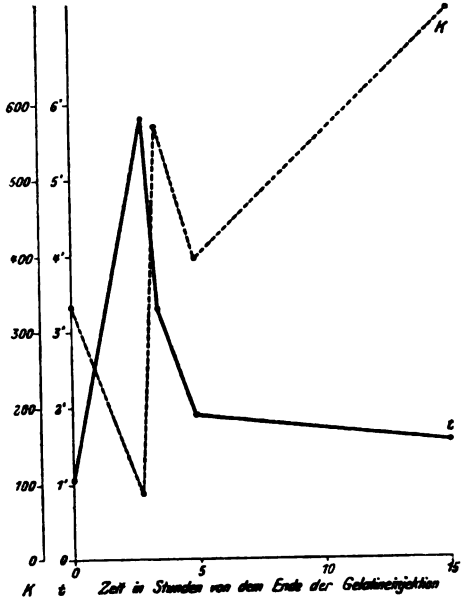
Blutprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Blutsammlung	Blutserum		
		Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	flüssig	1′ 42″	$K = 148{,}0 \times 10^{-4}$
2	0,4′	gallertartig	3′ 12″	$K = 155{,}4 \times 10^{-4}$
3	1,25′	„	2′ 40¹/₅″	$K = 158{,}2 \times 10^{-4}$
4	3,0′	„	2′ 18⁴/₅″	$K = 183{,}1 \times 10^{-4}$
5	4,45′	„	2′ 26²/₅″	$K = 180{,}6 \times 10^{-4}$
6	17,25′	„	2′ 18″	$K = 178{,}1 \times 10^{-4}$

Bei diesem Experiment wurde die Entnahme des Harns nach der Injektion eine viel längere Zeit hindurch vorgenommen als bei den vorhergehenden Experimenten. Auf diese Weise konnte beobachtet werden, daß die Zunahme der Ausflußzeit des nach der Injektion abgeflossenen Harns mit ziemlicher Geschwindigkeit abnahm, bis sie gegen die 4. und 5. Stunde einen Wert erreichte, der nicht viel höher als der normale war. Dieser Wert bleibt noch einen langen Zeitabschnitt hindurch (ca. 15 Stunden nach der Injektion) fast unverändert.

Die Werte der elektrischen Leitfähigkeit des Harns ändern sich sehr oft sprungweise im Verhältnis zu den zahlreichen NaCl-Injektionen, die dem Tiere nacheinander während des Experimentes gemacht wurden,

um die infolge der beträchtlichen Menge der injizierten Gelatine aufgehobene Harnabsonderung zu erleichtern.

Die Ausflußzeit des Blutserums nimmt zuerst zu, dann leicht ab, wie bei dem vorher beschriebenen (III.) Experiment. Die elekrische Leitfähigkeit nimmt nach der Injektion zu, und um die 17. Stunde herum ist sie noch höher als die normale. Die 17 Stunden nach der Injektion entnommene Blutprobe ist erstarrt, während der 15 Stunden nach der Injektion aufgefangene Harn nicht völlig erstarrt.



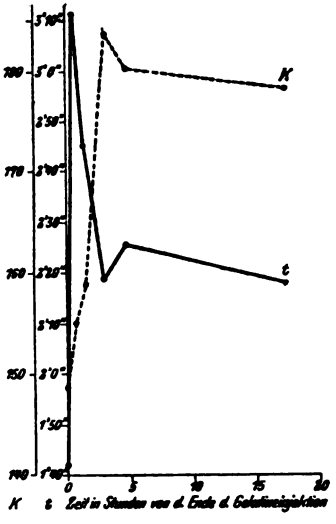
Kurve 3.

B. Intravenöse Injektionen von Gelatinelösungen bei normalen Tieren

IV. Experiment (20. III. 09). Temperatur der Umgebung 15° C.

♂ Hund von 14.500 kg Körperwicht, der seit 18 Std. hungert.

9h 30' vormitt. — Mittels des Katheters wird der Blase eine Harnprobe entnommen, und die Blase wird unter Zusammendrückung des Abdomens entleert.



Kurve 4.

9h 35'. Entnahme einer Blutprobe (30 ccm) aus der rechten A. femoralis; ich lasse sie spontan in geschlossenem Gefäß gerinnen.

9h 40'. In die rechte V. femoralis werden 200 ccm einer Gelatinelösung injiziert (10 g in der Wärme in 100 ccm einer 0,9%igen NaCl-Lösung aufgelöste Gelatine).

9h 50'. Mittels des Katheters wird eine Harnprobe entnommen.

10h. Ich entnehme eine zweite Blutprobe (30 ccm) und defibriniere.

10h 10'. Mit dem Katheter wird eine dritte Harnprobe entnommen. Der Harn fließt reichlich aus dem Katheter bis 10h 20'. Um diese Zeit läßt die Harnabsonderung merklich nach.

Von $10^h\,25'$ bis $11^h\,50'$ wird eine vierte Harnprobe aufgefangen. Während dieser Zeit erfolgt das Ausfließen des Harns anfangs sehr langsam (3 Tropfen in der Minute). Der Harn erscheint sehr schleimig und wird rasch gallertartig. Nach und nach wird er jedoch flüssiger und das Ausfließen erfolgt reichlicher (20 Tropfen in der Minute).

12^h. Die Harnabsonderung wird von neuem spärlich und hört um $12^h\,5'$ vollständig auf. Bei Druck auf den Bauch kommt kein einziger Tropfen Harn aus dem Katheter.

$12^h\,15'$. Ich entnehme der rechten A. femoralis eine dritte Blutprobe und defibriniere.

Der Hund wird von dem Ausspannungsapparat heruntergenommen.

$2^h\,55'$. Mittels des Katheters wird eine fünfte Harnprobe entnommen, und die Blase wird durch Druck auf den Unterleib entleert.

$5^h\,30'$. Mittels des Katheters entnehme ich eine sechste Harnprobe, indem ich die Blase zu entleeren suche.

6^h. Ich entnehme eine vierte Blutprobe (30 ccm) und defibriniere.

21. III. 1909.

$9^h\,30'$ vormitt. Mittels des Katheters entnehme ich der Blase eine siebente Harnprobe. Das Tier hat während der Nacht nicht uriniert.

10^h. Ich entnehme der linken A. femoralis eine fünfte Blutprobe (30 ccm) und defibriniere.

22. III. 1909.

$8^h\,40'$ vormitt. Entnahme einer achten Harnprobe mittels des Katheters. Das Tier hat während der Nacht reichlich uriniert.

9^h. Ich entnehme der rechten Carotis eine sechste Blutprobe (30 ccm) und defibriniere.

23. III. 1909.

11^h vormitt. Ich entnehme mittels des Katheters der Blase eine neunte Harnprobe.

$11^h\,15'$. Ich entnehme der rechten Carotis eine siebente Blutprobe (30 ccm) und defibriniere.

Pro Kilogramm des Tieres injizierte Gelatine 1,379 g.

Die bei Bestimmung der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit der verschiedenen während dieses Experimentes entnommenen Harn- und Blutproben erhaltenen Werte sind in den folgenden Tabellen verzeichnet; in der ersten Tabelle ist auch der trockene Rückstand von 100 ccm Harn angegeben.

Alle verzeichneten Werte sind sodann nach dem gewöhnlichen System auf Ordinaten und Abszissen graphisch eingetragen worden.

Aus der die Bestimmung des Harnes angebenden Tabelle und aus der beigefügten graphischen Darstellung ersieht man, daß die Ausflußzeit des Harns, nachdem sie infolge der Gelatineinjektion stark zugenommen hatte, rasch abnimmt, bis sie in der fünften Stunde fast den normalen Wert erreicht; dennoch erhält sie sich bis über die 30. Stunde hinaus stets über dem normalen Wert.

Experiment IV (20. III. 09).

Harn					
Harnprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende d. Gelatineinjektion bis zum Ende der Sammlung der einzelnen Harnproben	Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C	Trockener Rückstand des enteiweißten Harns (r) %
1 (norm.)	—	flüssig, klar, hellgelb, ohne Eiweiß	1′ $5^3/_5$″	$K = 258{,}8 \times 10^{-4}$	2,82
2	0,10′	„	1′ 6″	$K = 258{,}8 \times 10^{-4}$	—
3	0,30′	„	1′ $6^4/_5$″	$K = 252{,}5 \times 10^{-4}$	3,05
4	1,10′	gallertartig, opalesc., gelb, ohne Eiweiß	10′ 35″	$K = 85{,}5 \times 10^{-4}$	19,70
5	5,15′	flüssig, klar, gelb	1′ 15″	$K = 118{,}1 \times 10^{-4}$	3,05
6	7,50′	„	1′ 13″	$K = 167{,}5 \times 10^{-4}$	—
7	23,50′	„	1′ 14″	$K = 278{,}7 \times 10^{-4}$	6,68
8	47,0′	flüssig, hellgelb	1′ 5″	$K = 217{,}6 \times 10^{-4}$	1,91
9	61,20′	mit Ablagerung, ohne Eiweiß	1′ 7″ (Gelatinelös. 9′) (H_2O = 0′ $57^2/_5$″)	$K = 303{,}5 \times 10^{-4}$ Gelatinelösung $K = 167{,}3 \times 10^{-4}$	(Gelatinelösung 6,51 %)

Experiment IV (20. III. 09).

Blut				
Blutprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Blutsammlung	Blutserum		
		Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	flüssig, klar	1′ 31″	$K = 151{,}0 \times 10^{-4}$
2	0,20′	gallerartig, rosenrot	2′ 21″	$K = 158{,}5 \times 10^{-4}$
3	2,35′	„	2′ 16″	$K = 162{,}4 \times 10^{-4}$
4	8,20′	„	2′ 11″	$K = 162{,}4 \times 10^{-4}$
5	24,20′	halbflüssig (Milchsaftartig) chylös	1′ $51^2/_5$″	$K = 157{,}8 \times 10^{-4}$
6	47,20′	„	1′ 40″	$K = 151{,}9 \times 10^{-4}$
7	61,35′	flüssig, klar, rosenrot	1′ 36″ (Gelatinlös. 9′) (H_2O = 0′ $57^2/_5$″)	$K = 155{,}4 \times 10^{-4}$ Gelatinlösung $K = 167{,}3 \times 10^{-4}$

Die den trockenen Rückstand des Harns repräsentierenden Werte folgen diesen Schwankungen der Ausflußzeit.

Die elektrische Leitfähigkeit dagegen nimmt entsprechend der Erhöhung der Ausflußzeit sehr schnell ab, um dann derart zuzunehmen, daß sie den normalen Wert erreicht und ihn gegen die 24. Stunde etwas überschreitet.

Die den Harn des jetzt besprochenen Experimentes betreffenden Resultate bestätigen die schon beim III. Experiment erhaltenen, bei dem jedoch das Auffangen des Harnes infolge Verendens des Tieres in der 15. Stunde aufhörte.

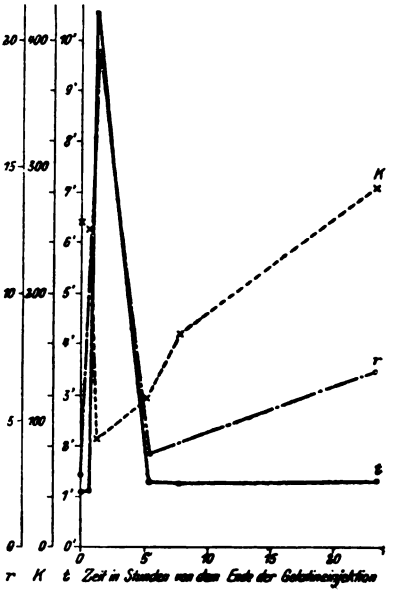
Die citronengelbe Farbe des normalen Harns wird nach der Injektion dunkler, dann aber wieder normal. Nach der 5. Stunde wird der aufgefangene Harn nicht gallertartig. Sämtliche Proben enthalten kein Eiweiß.

Aus der die Bestimmungen des Blutserums enthaltenden Tabelle und aus der beigefügten graphischen Darstellung ergeben sich die Schwankungen der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit für einen viel längeren Zeitabschnitt als bei den vorhergehenden Experimenten.

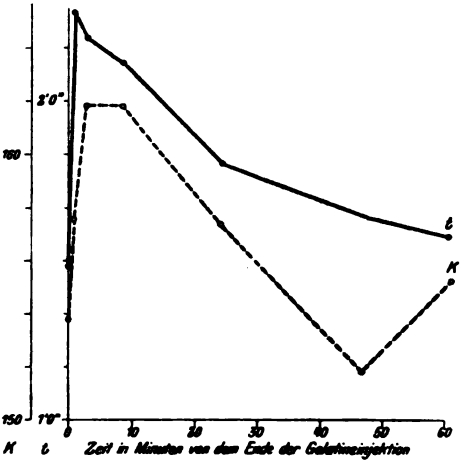
Die Schwankungen der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit verlaufen parallel; zuerst bemerkt man eine Zunahme, dann eine langsame Abnahme der Werte, bis sie ungefähr um die 60. Stunde herum den normalen Wert erreichen.

Das 24 Stunden nach der Injektion entnommene Blutserum wird gallertartig.

Ähnliche Resultate erhielt ich auch bei einem anderen, unter fast gleichen Bedingungen gemachten Experiment, über das ich aber der Kürze wegen nicht berichte.



Kurve 5.



Kurve 6.

V. Experiment (17. III. 1909). Temperatur der Umgebung 17° C.

♂ Hund von 9.00 kg Gewicht, hungert seit 13 Std.

11h 35′ vormittags. Ich entnehme der Blase eine Harnprobe und suche durch Zusammenpressen des Unterleibes die Blase zu entleeren.

11h 50'. Ich entnehme der rechten A. femoralis eine Blutprobe (25 ccm) und lasse das Blut im geschlossenem Gefäß spontan gerinnen.

Von 12h bis 12h 20' injiziere ich in die rechte A. femoralis 180 ccm einer Gelatinelösung (10 g Gelatine, aufgelöst in der Wärme in 100 ccm einer 0,9%igen NaCl-Lösung).

Von 12h 22' bis 12' 40' wird Harn aufgefangen, der reichlich aus dem Katheter fließt.

12h 33'. Ich entnehme eine 2. Blutprobe und defibriniere.

Von 12h 33' bis 1h fange ich den Harn auf, der langsam aus dem Katheter kommt; er ist blutig und wird bald gallertartig.

Von 1h bis 1h 23' wird Harn aufgefangen. Er ist klar und fließt in größerer Menge aus.

Von 1h 23 bis 1h 45' wird nochmals Harn aufgefangen.

1h 50'. Das Tier wird vom Ausspannapparat genommen.

6h. Mittels Katheters wird der Blase eine weitere Harnprobe entnommen.

Der Hund wird gefüttert.

18. IV. 1909.

9h vormittags. Der Hund hat das Futter von sich gegeben; es findet sich im Auffanggefäß eine kleine Menge Harn mit Faeces vermischt.

9h 10'. Mittels des Katheters und Kompression des Unterleibes entnehme ich Harn.

Es fließen ca. 200 ccm rötlichgelben Harns aus.

9h 20'. Ich entnehme der linken A. carotis eine Blutprobe (25 ccm) und defibriniere.

19. III. 1909.

8h vormittags. Der Hund hat wieder erbrochen. In dem zum Auffangen bestimmten Gefäß findet sich Harn mit diarrhöischen Faeces.

11h. Ich entnehme der rechten A. carotis 25 ccm Blut und defibriniere es.

11h 15'. Entnahme einer Harnprobe.

20. IV. 1909.

9h vormittags. Der Hund wird tot gefunden.

Pro Kilogramm des Tieres injizierte Gelatine: 2,000 g.

Die Werte der an den verschiedenen Harn- und Blutserumproben ausgeführten Bestimmungen sind in den folgenden Tabellen verzeichnet.

Bei diesem Experiment war die pro Kilogramm des Tieres injizierte Menge Gelatine fast die doppelte der bei dem vorhergehenden Experiment injizierten. Das Tier zeigte Erbrechen und Diarrhöe und starb während der auf den zweiten Tag nach der Injektion folgenden Nacht. Trotzdem waren die schweren Störungen, welche die in den Kreislauf eingeführte Gelatine dem Tiere verursachte, und die physikochemischen Schwankungen des in den verschiedenen Zeitabschnitten nach der Injektion aufgefangenen Harns nicht so sehr viel größer als bei dem vorhergehenden Experiment. Sie wurden jedoch in einer verhältnismäßig kürzeren Zeit beobachtet; ferner wurde der kurz nach der In-

Experiment V (17. IV. 09).

Harn				
Harnprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Sammlung der einzelnen Harnproben	Bemerkungen (bei Zimmertemperatur) über gemischten Harn	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	hellgelb, flüssig	1′ $5^2/_5$″	$K=286{,}7\times10^{-4}$
2	0,10′	hellgelb, flüssig 48 ccm	1′ 5″	$K=273{,}4\times10^{-4}$
3	0,40′	gallertartig, rosenrot 5,4 ccm	11′ 38″	$K=113{,}3\times10^{-4}$
4	1,3′	halbflüssig 5,5 ccm	5′ 35″	$K=140{,}3\times10^{-4}$
5	1,25′	halbflüssig, gelb 6,5 ccm	3′ 4″	$K=153{,}1\times10^{-4}$
6	5,40′	hellgelb, flüssig 36 ccm	1′ 42″	$K=165{,}6\times10^{-4}$
7	20,50′	hellgelb, flüssig (rund) 200 ccm	1′ 16″	$K=200{,}2\times10^{-4}$
8	47,55′	hellgelb, trübe	1′ 10″ Gelatinelös. 9′ (H_2O = 0′ $57^2/_5$″)	$K=302{,}7\times10^{-4}$ Gelatinelösung $K=167{,}3\times10^{-4}$

Experiment V (17. IV. 09).

Blut				
Blutprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zur Blutsammlung	Blutserum		
		Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	klar	1′ 35″	$K=150{,}6\times10^{-4}$
2	3,0′	gallertartig	3′ 6″	$K=150{,}6\times10^{-4}$
3	24,15′	„	2′ 28″	$K=155.5\times10^{-4}$
			Gelatinelösung 9′ (H_2O = 0′ $57^2/_5$″)	Gelatinelösung $K=167{,}3\times10^{-4}$

jektion aufgefangene Harn im Gegensatz zu den früheren Experimenten leicht blutig angetroffen, und wurde, wie wir beobachteten, bei der Temperatur der Umgebung gallertartig. Auch die physiko-chemischen Schwankungen des Serums unterschieden sich von denen des vorhergehenden Experiments insofern, als sie etwas stärker ausgeprägt waren.

VI. Experiment (27. III. 1909). Temperatur der Umgebung 15° C.

♂ Hund von 11,00 kg Körpergewicht, hungert seit 12 Stunden.

10^h vormittags. Ich entnehme der Blase eine Harnprobe und entleere sie durch Zusammenpressen des Unterleibs.

10^h 15′. Ich entnehme der rechten A. femoralis eine Blutprobe (25 ccm) und lasse sie spontan im geschlossenem Gefäß gerinnen.

10^h 20′. In die rechte V. femoralis werden 100 ccm einer Gelatinelösung injiziert (25 g Gelatine, in der Wärme aufgelöst in 100 ccm einer 0,9%igen NaCl-Lösung).

10^h 30′ bis 11^h 40′ Entnahme einer 2. Harnprobe mittels des Katheters. Der Harn kommt flüssig, tropfenweise heraus und ist von strohgelber Farbe; dann kommt blutiger Harn, der, sobald er aufgefangen ist, gallertartig wird.

1^h 20′. Ich entnehme eine weitere Blutprobe und defibriniere. Das Tier wird von dem Ausspannungsapparat heruntergenommen.

5^h 30′. Mit dem Katheter wird eine dritte Harnprobe entnommen.

6^h. Das Tier weist die Nahrung zurück.

28. III. 09.

10^h 30′ vorm. Der von dem Tier während der Nacht gelassene Harn (50 ccm) wird aufgefangen.

10^h 35′. Unter Einführung des Katheters in die Blase wird eine fünfte Harnprobe entnommen.

10^h 40′. Entnahme einer dritten Blutprobe aus der A. femoralis.

11^h. Mit dem Katheter wird eine sechste Harnprobe entnommen.

12^h. Das Tier, das bis jetzt gehungert hat, weist die Nahrung zurück.

29. III. 09.

10^h vorm. Der Hund wird tot aufgefunden. Der während der Nacht gelassene Harn wird aufgefangen. Bei der nekroskopischen Untersuchung findet sich, daß die Nieren an Volumen zugenommen haben; sie zeigen sich hyperämisch, und beim Schnitt bemerkt man zahllose Hämorrhagien.

Pro Kilogramm des Tieres injizierte Gelatine: 2,272 g.

Die bei den physiko-chemischen Bestimmungen des Harns und des Blutserums erhaltenen Werte sind in den folgenden Tabellen verzeichnet, denen die betreffenden Diagramme folgen.

Experiment VI (27. III. 09).

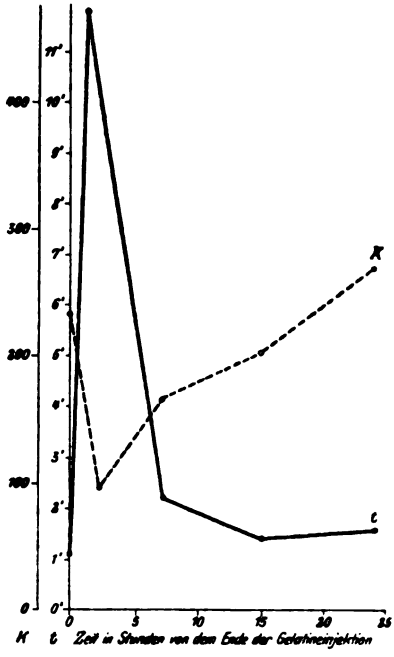
Harn				
Harnprobe	Zeit (in Stunden) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Sammlung d. einzelnen Harnproben	Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	flüssig, klar, gelb	1′ 1″	$K = 233{,}4 \times 10^{-4}$
2	1,20′	gallertartig mit roten Blutkörperchen	11′ 51″	$K = 88{,}7 \times 10^{-4}$
3	7,10′	gallertartig, hellgelb	2′ 12″	$K = 164{,}3 \times 10^{-4}$
4 (Nachtprobe)	15 (rund)	flüssig, „	1′ $19^2/_5$″	$K = 199{,}6 \times 10^{-4}$
5	24,15′	„ gelbbraun	1′ 24″	$K = 266{,}7 \times 10^{-4}$
6	24,40′	„ „	1′ $25^3/_5$″	$K = 242{,}8 \times 10^{-4}$
7 (Nachtprobe)	35 (zirka)	„ „	1′ 37″	$K = 257{,}6 \times 10^{-4}$
			(Gelatinelösung 52′ 55″) (H_2O=0′ $57^2/_5$″)	(Gelatinelösung $K = 128{,}9 \times 10^{-4}$)

Experiment VI (27. III. 09).

Blut				
Blutprobe	Zeit (in Std.) von dem Ende der Gelatineinjektion bis zum Ende der Blutsammlung	Blutserum		
		Bemerkungen (bei Zimmertemperatur)	Ausflußzeit (t) bei 37° C	Elektrische Leitfähigkeit (K) bei 37° C
1 (norm.)	—	flüssig, klar	1′ 43″	$K = 149{,}8 \times 10^{-4}$
2	0,13′	gallertartig, klar, rosenrot	2′ 38″	$K = 152{,}7 \times 10^{-4}$
3	21,0′	„ „ „	2′ 22″	$K = 155{,}3 \times 10^{-4}$
4	47,40′	flüssig, „ „	2′ 8″	$K = 152{,}7 \times 10^{-4}$
			(Gelatinelösung 52′ 55″) ($H_2O = 0′ 57^2/_5″$)	(Gelatinelösung $K = 128{,}9 \times 10^{-4}$)

Die Resultate dieses Experimentes bestätigen die bei dem vorher beschriebenem Experimente erhaltenen.

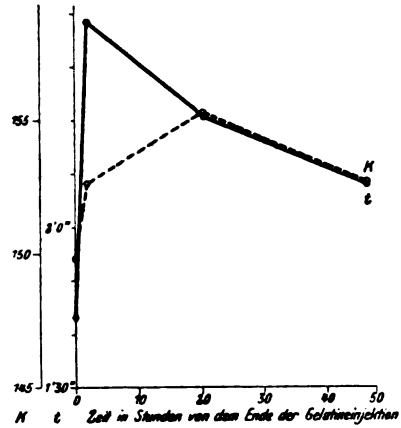
Nach Injektion von 2,272 g Gelatine pro Kilogramm des Tieres zeigt dieses schwere Symptome von Intoleranz und verendet nach Verlauf von ca. 40 Stunden.



Kurve 7.

Der in verschiedenen Zeitintervallen aufgefangene Harn zeigt anfangs die gewöhnliche Zunahme der Ausflußzeit und dann die Abnahme, die jedoch nicht so groß ist, daß der normale Wert auch nach 35 Stunden erreicht wird.

Die elektrische Leitfähigkeit nimmt nach der Injektion ab, dann aber wieder zu und geht über den normalen Wert hinaus.



Kurve 8.

Die Farbe des Harns erleidet Veränderungen wie beim vorhergehenden Experiment; sogleich nach der Injektion wird sie rötlich und erlangt dann wieder den normalen Ton.

Das Serum der 21 Stunden nach der Injektion entnommenen Blutprobe wurde gallertartig. Die Schwankungen der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit waren in der 45. Stunde nach der Injektion nicht verschwunden.

IV. Schlußfolgerungen und allgemeine Überlegungen.

Wenn wir zunächst untersuchen wollen, welchen Grad von Toleranz der Organismus der direkt ins Blut eingeführten Gelatine gegenüber zeigt, so müssen wir die von mir beschriebenen Experimente der ersten Reihe, bei welchen vorher eine beiderseitige Fistel des Harnleiters angelegt wurde, getrennt von denen der zweiten Versuchsreihe betrachten, die an Tieren unter normalen Verhältnissen angestellt wurde. Denn bei den ersteren war der stets in einem verhältnismäßig kurzen Zeitabschnitte (10 bis 12 Stunden nach Beginn des Experimentes) eingetretene Tod unzweifelhaft vor allem der Schwere des operativen Eingriffes zuzuschreiben. In der Tat ertragen

die Tiere, bei denen keine Fistel angelegt war, die Einführung einer Menge Gelatine in den Kreislauf sehr gut, die gleich oder auch größer war als diejenige, welche bei Verabfolgung an Tiere mit Fisteln sich stets als tödlich erwies. Will man approximativ die minimalste tödliche Dosis Gelatine pro Kilogramm des Tieres bestimmen, so kann man mithin auf Grund der Resultate der zweiten Reihe von Experimenten annehmen, daß sie 2 g beträgt. Bei dieser Dosis tritt der Tod innerhalb eines Zeitabschnittes von zirka 40 Stunden ein.

Die Hauptsymptome, welche das Tier zeigt, bestehen in einem Sopor, der fortwährend zunimmt, bis er einen wahren komatösen Zustand erreicht. Die Herzschläge, welche anfangs an Frequenz zunehmen, werden immer schwächer und seltener; die Nierenabsonderung kommt ganz oder beinahe zum Stillstand. In einem diesen schwersten Bedingungen vorhergehenden Zeitabschnitt oder wenn die Gelatineinjektion nicht rasch zum Tode führte, weist das Tier, obwohl es hungert, die Nahrung zurück, bekundet Nausea, hat Anfälle von Erbrechen und diarrhöische Entleerungen.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die schwersten nach Injektion von Gelatine auftretenden Störungen von der enormen Zunahme der Viscosität des Blutes abhängen, die von Agglutinationserscheinungen der roten Blutkörperchen herrührt.

Da diese Zunahme der Viscosität der zirkulierenden Flüssigkeit das Herz zu einer erschöpfenden Arbeit zwingt, so führt sie notwendigerweise zu einer Verlangsamung der Blutzirkulation; daher Verminderung der Bespülung und Anämie in den verschiedenen Organen und Geweben. So ist vielleicht der Zustand von Sopor und Koma, dem das Tier nach Injektion einer gewissen Menge Gelatine verfällt, nichts anderes als die Folge des anämischen Zustandes der Nervenzentren. Ferner ist als Ursache schwerer allgemeiner Störungen die Abnahme oder der Stillstand der Nierenfunktion anzuführen, wodurch die regulierenden Kräfte des Organismus fast vollständig lahm gelegt werden.

Betrachten wir dagegen die Experimente im Hinblick auf das dem Organismus eigene Vermögen, die ins Blut injizierte Gelatine durch die Nieren wieder auszuscheiden, so unterscheiden sich die von mir bei Tieren mit Fisteln der Harnleiter erhaltenen Resultate nicht von denen, die ich bei den unter normalen Verhältnissen beobachteten erhielt. Denn wenn wir an den letzteren nur die Schwankungen der Nierenabsonderung und die physiko-chemischen Merkmale des Harns eine sehr lange Zeit hindurch, fast bis zur Rück-

kehr der normalen Verhältnisse, beobachten können, so gestatten uns die ersteren, sie viel eingehender während des Zeitabschnittes zu verfolgen, der unmittelbar auf die intravenöse Injektion der Gelatine folgt.

Es ergibt sich also aus allen von mir beschriebenen Experimenten, welche die Injektion von Gelatine in die Venen sowohl von Hunden, bei denen vorher eine Fistel der Harnleiter angelegt worden war, als auch von Hunden unter normalen Verhältnissen betreffen, daß die Nierenabsonderung rasch abnimmt oder ganz aufhört während eines mehr oder minder langen Zeitabschnittes, je nach der Menge der eingeführten Gelatine. Und wenn dem Tier eine verhältnismäßig große Menge Gelatine injiziert worden ist, so hält es schwer, selbst mit den sonst wirksamsten Mitteln die Nierenabsonderung wiederherzustellen.

Ferner ergibt sich aus meinen Experimenten, daß nach intravenöser Injektion von verschiedenen Mengen Gelatine Schwankungen der physiko-chemischen Merkmale des Harns eintreten, die ebenfalls nicht nur je nach der Menge der injizierten Gelatine, sondern auch je nach der seit der Injektion verlaufenen Zeit mehr oder minder ausgeprägt sind. Diese Schwankungen sind in einigen Fällen von anderen ganz augenfälligen Schwankungen des physikalischen Aussehens des Harns (Gelifikation) begleitet, die unzweifelhaft den Beweis dafür liefern, daß Gelatine in ihm enthalten ist.

Die physiko-chemischen Schwankungen des Harns bei Tieren, denen man Gelatine injiziert hat, sind namentlich solche der Ausflußzeit (t) und der elektrischen Leitfähigkeit (K). Die Ausflußzeit nimmt derart zu, daß sie in einigen Fällen größer ist als die Ausflußzeit der injizierten Lösung; die elektrische Leitfähigkeit hingegen nimmt ab, bis sie unter dem Werte ist, den die injizierte Gelatinelösung hat. Ähnliche Schwankungen wie die der Ausflußzeit finden sich sodann beim trockenen Rückstand (r) und ähnliche Schwankungen wie die der elektrischen Leitfähigkeit zeigen sich bei dem in einem bestimmten Zeitabschnitt ausgeschiedenen Harnvolumen (v).

Erst 5 oder 6 Stunden nach der Injektion der Gelatine zeigen die physiko-chemischen Eigenschaften des Harns das Bestreben, zu ihrem normalen Werte zurückzukehren. Wie

sich aber aus den Tabellen und noch deutlicher aus den graphischen Darstellungen ergibt, welche die an Hunden ohne Fistel gemachten Experimente zusammenfassen, erreicht die Ausflußzeit den normalen Wert nicht einmal nach einem Zeitabschnitt von mehr als 48 Stunden.

Ferner ersieht man aus den an Hunden mit Fisteln gemachten Experimenten, bei denen es möglich war, den in kurzen Zeitintervallen ausgeschiedenen Harn aufzufangen und zu trennen, daß die starken Schwankungen der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit sich nicht sofort nach der Injektion der Gelatine zeigen.

So ergibt sich aus dem Studium der physiko-chemischen Schwankungen des Harns in den verschiedenen seit Einführung der Gelatine in den Kreislauf verlaufenden Zeitabschnitten, daß bei der Ausscheidung dieser Substanz auf dem Nierenwege drei verschiedene Perioden unterschieden werden können, die aufeinander in nachstehender Ordnung folgen:

a) eine erste Periode von ungefähr 1stündiger Dauer, während welcher die Gelatine in sehr kleiner Menge ausgeschieden wird;

b) eine zweite Periode, während welcher die Ausscheidung groß ist und ihr Maximum erreicht; dies ist die Periode, in der Verminderung oder Stillstand der Nierenabsonderung eintritt, endlich

c) eine dritte im Verhältnis zu den anderen sehr lange Periode (von der 5. bis ca. 40. Stunde nach der Injektion), welche beweist, daß ein Teil der ins Blut eingeführten Gelatine lange im Organismus bleibt und erst spät und allmählich ausgeschieden wird.

Ob dieser letzte Teil der Gelatine, der während einer so langen Zeit im Organismus verbleibt, ehe er vollständig durch die Nieren ausgeschieden wird, sich in den verschiedenen Organen und Geweben verteilt oder statt dessen in beträchtlicher Menge im Blute zurückbleibt, ergibt sich klar aus den Bestimmungen der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit des gleichzeitig mit den verschiedenen Harnproben entnommenen Blutserums.

Die Schwankungen der physiko-chemischen Konstanten des Blutserums nach Injektion von Gelatine bestehen haupt-

sächlich in einer starken Zunahme der Ausflußzeit und der elektrischen Leitfähigkeit, abgesehen von den Schwankungen der letzteren, die, wie ich schon bemerkte, wahrscheinlich abhängen von der Injektion von NaCl-Lösungen oder auch von der Gelatinelösung selbst, die fast immer eine größere elektrische Leitfähigkeit zeigte als das Blutserum. Daß die Zunahme der Ausflußzeit dem normalen Werte gegenüber bis über die 40. Stunde hinaus andauerte, beweist, daß auch nach Verlauf dieser ganzen Zeit seit der Injektion eine beträchtliche Menge Gelatine sich im Blute befindet.

Über die Formoltitration der Aminosäuren im Harne.

Von

Tanzo Yoshida, Formosa (Japan).

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 18. November 1909.)

Durch die Anwendung der Formolmethode Sörensens auf den Harn durch Henriques[1]) ist die Bestimmung der Aminosäuren im Harn auch dem Kliniker zugänglich geworden. Bei der Wichtigkeit, die die Kenntnis des Aminosäurenstoffwechsels besitzt, glaubte ich, vor der direkten Anwendung der Methode ihre Brauchbarkeit und Genauigkeit in einigen Vorversuchen prüfen zu müssen. Das Verfahren ist genau nach den Vorschriften Henriques ausgeführt; auf die genaue Beschreibung desselben kann ich daher verzichten.

Zunächst konnte ich mich davon überzeugen, daß dem Harn zugefügtes Glykokoll mit der Formolmethode mit genügender Genauigkeit zu bestimen ist.

1. In 1000 ccm Harn, der nach der Formolmethode 0,0835 g Aminosäuren-N enthielt, wurden 2 g Glykokoll (mit 0,3733 g N) gelöst. Nach der Formolmethode wurden nun gefunden 0,4512 g N statt der berechneten 0,4568. Also 98,8% der Theorie.

2. In 500 ccm Harn, der nach der Formolmethode 0,0169 g Aminosäuren-N enthielt, wurden 0,5 g Glykokoll (mit 0,0933 g N) gelöst. Nach der Formolmethode wurden nun gefunden 0,1085 g N, statt der berechneten 0,1102 g. Also 98,47% der Theorie.

Nach diesen Versuchen gibt die Formolmethode die Menge des Glykokolls im Harn quantitativ wieder. Die folgenden Versuche jedoch, die mit einem Salzgemisch, das den im Harn obwaltenden Verhältnissen in gewisser Hinsicht gerecht wird, angestellt sind, legen es jedoch nahe, die Verhältnisse doch ein wenig ungünstiger zu beurteilen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 1, 1909.

3. 2,0 g Glykokoll (mit 0,3733 g N), 2,50 g Chlorammonium (mit 0,6518 g N), 10 g Harnstoff, 5 g Natriumphosphat und 15 g Kochsalz wurden in 1017 ccm Wasser gelöst und nach Henriques analysiert. Gefunden wurde als NH_3-N (nach Krüger-Reich-Schittenhelm) 0,6518 g, als Ammoniak- und Aminosäurenstickstoff 0,9768 g, d. h. 0,3268 g Glykokoll-N, d. h. 87,54% der berechneten Menge.

4. Bei einer zweiten Bestimmung derselben Mischung wurde gefunden 0,3261 g Glykokoll-N, d. h. 87,35% der Theorie.

5. 100 ccm einer Lösung von Chlorammonium mit 0,6518 g N (bestimmt nach Krüger-Reich und mit der Formoltitration) und 500 ccm einer Lösung von Glykokoll (mit 0,1867 g N, Kjeldahl) wurden so gemischt, daß von der ersteren 15 ccm (= 0,0978 g N), von der zweiten 85 ccm (= 0,0317 g N) genommen wurden. Gefunden wurde nach der Formoltitration 0,1252 g N, d. h. 0,02743 g Glykokoll-N, also 86,42% der Theorie.

Die Formolmethode gibt also, wie dies inzwischen de Jager[1]) auch konstatieren konnte, bei Anwesenheit von Ammoniumsalzen etwas zu niedrige Werte. Daß weder Harnstoff noch die anderen Salze störend wirken, zeigt der folgende Versuch.

6. 2,0 g Glykokoll, 5 g Natriumphosphat, 15 g Chlornatrium, 10 g Harnstoff wurden in 1000 ccm Wasser gelöst. Gefunden wurden nach der Formolmethode 0,3762 g N statt der berechneten 0,3733 g N.

Auch die Vorbehandlung mit $BaCl_2$ beeinflußt die Glykokollwerte nur unbedeutend.

7. Eine Glykokollösung ohne Vorbehandlung mit $BaCl_2$ gab 0,3356 g N, mit $BaCl_2$ behandelt usw. 0,3268 g N (97,37%).

8. Eine Glykokollösung gab ohne Vorbehandlung mit $BaCl_2$ usw. 0,3762 g N, nach Vorbehandlung mit $BaCl_2$ usw. 0,3675 g N (97,68%).

Selbstverständlich muß die Ammoniakbestimmung bei der Methode mit der größten Sorgfalt ausgeführt werden, da der Aminosäuren-N nur als Differenz berechnet wird. Da wir über mehrere genaue Methoden verfügen, um das Ammoniak quantitativ zu bestimmen, dürfte jedoch diese mögliche Fehlerquelle leicht eliminierbar sein. Ich arbeitete nach der Krüger-Reich-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 62, 332, 1909.

Schittenhelmschen Methode; durch Parallelversuche wurden die Werte kontrolliert.

Daß die Vorbehandlung mit $BaCl_2$, in Übereinstimmung mit der Angabe von Henriques, die Bestimmung nicht stört, zeigen folgende Versuche:

9. 16 ccm Harn von einem gesunden Menschen
gaben nach Vorbehandlung mit $BaCl_2$ 6,85 ccm $^n/_{10}$-NaOH entsprechend NH_3-N,
gaben ohne Vorbehandlung mit $BaCl_2$ 6,85 ccm $^n/_{10}$-NaOH entsprechend NH_3-N.

10. 16 ccm Harn von einem gesunden Menschen
gaben nach Vorbehandlung mit $BaCl_2$ 6,80 ccm $^n/_{10}$-NaOH entsprechend NH_3-N,
gaben ohne Vorbehandlung mit $BaCl_2$ 6,75 ccm $^n/_{10}$-NaOH entsprechend NH_3-N.

Eine Zunahme der formoltitrierbaren Substanz nach mehrtägigem Aufbewahren des Harnes unter Toluolzusatz[1]) konnte ich in zwei Fällen nicht finden.

	Harn	Amino-säuren-N g	Ammoniak-N g	Gesamt-N g
11. I.	in frischem Zustand	0,0915	0,4897	10,49
	nach 5 Tagen unter Toluolzusatz	0,0969	0,4951	10,52
12. I.	in frischem Zustand	0,1038	0,4406	10,19
	nach 5 Tagen unter Toluolzusatz	0,1083	0,4406	10,22

Die Differenzen der Aminosäurenwerte übersteigen die Fehlergrenze der Methode kaum.

Da die Endreaktion mit Phenolphthalein nach meinen Beobachtungen in stark gefärbten Harnen (in konzentriertem Harn oder Ikterusharn) anscheinend etwas später eintritt, prüfte ich in einem Versuch den Einfluß von Gallenfarbstoff auf die Reaktion.

13. 16 ccm einer Lösung von 1,0 g Glykokoll in 500 ccm Wasser gelöst, verbrauchten bei der Formoltitration 4,30 ccm $^n/_{10}$-NaOH; zu anderen 16 ccm der gleichen Glykokollösung wurden 3 bis 4 Tropfen einer Gallenlösung gesetzt, so daß

[1]) vgl. Malfatti, Zeitschr. f. physiol. Chem. 61, 499, 1909.

die Farbe der Lösung ziemlich stark gelb wurde, und dann wie die andere Probe der Formoltitration unterworfen. Verbraucht wurden 4,35 ccm $^n/_{10}$-NaOH. Der Einfluß des Gallenfarbstoffs ist demnach gering.[1])

Die Anwendung von Lackmus als Indicator zur Feststellung der wahren Neutralität der Anfangslösung ist ebenso geboten wie die von Phenolphthalein nach der Formoltitrierung. Der Einwand von Malfatti[2]) in diesem Punkte erscheint mir unberechtigt.

Alles in allem kann ich die Formolmethode zur Bestimmung der Aminosäuren im Harn als eine äußerst bequeme, schnell auszuführende und gute Methode bezeichnen, wenn sie auch anscheinend im Harn infolge der Anwesenheit von Ammoniumsalzen etwas zu niedrige Werte angibt.

II. Die Bestimmung der Aminosäuremengen nach der Formolmethode habe ich zunächst an dem Harn von drei gesunden Menschen ausgeführt. Der 24stündige Harn kam ganz frisch zur Untersuchung.

Die Ergebnisse sind in den nebenstehenden Tabellen A und B zusammengestellt.

Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, ist die Menge des Ammoniaks und der Aminosäuren bei den verschiedenen Individuen verschieden und schwankt auch bei derselben Person innerhalb gewisser Grenzen. Meistens beträgt der Aminosäuren-N ca. 1% (0,5 bis 2,0%) des Gesamtstickstoffs; die Tagesmenge schwankt zwischen 0,05 und 0,18 g. Den Einfluß der Kost zeigt die Tabelle B. Bei derselben Kost nähern sich die vorher sehr verschiedenen Werte der Versuchsperson K. J. der von T. Y. ganz deutlich, ohne daß die individuellen Differenzen ganz verwischt wären. Der von Henriques gefundene Wert für den Aminosäuren-N bei normalen Individuen (2,2% des Gesamtstickstoffs) ist höher als der meinige; hier mögen auch individuelle Verhältnisse eine Rolle spielen.

---

[1]) Vgl. übrigens die Vorschriften bei der Titration bei stark gefärbten Lösungen; S. P. L. Sörensen und H. Jessen-Hansen, diese Zeitschr. 7, 407, 1908.

[2]) l. c. Vgl. auch die inzwischen erschienene Arbeit von V. Henriques und S. P. L. Sörensen, in welcher die Anwendung beider Indicatoren ausführlich begründet ist. Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 27, 1909.

Tabelle A.

Datum	Name	Harnmenge in 24 Std. ccm	Total-N g	Aminosäuren-N g	Ammoniak-N g	In % des Total-N wurden gefunden an: Aminosäuren-N %	Ammoniak-N %	Bemerkungen
1909								
17. 8.	T. Y.	1160	13,52	0,1077	0,4703	0,8	3,5	Gesund. Gemischte Kost.
19. 8.	„	1110	16,10	0,1681	0,4843	1,0	3,0	„
21. 8.	„	970	15,36	0,1756	0,4616	0,7	3,0	„
26. 8.	„	1090	15,18	0,0979	0,6705	1,0	4,4	„
27. 8.	„	980	14,20	0,1348	0,6125	1,0	4,3	„
6. 10.	„	950	10,19	0,1038	0,4406	1,0	4,3	„
18. 8.	K. J.	1258	9,809	0,1176	0,6253	1,2	6,4	Gesund. Gemischte Kost, aber weniger Fleisch als T. Y.
20. 8.	„	1128	8,618	0,1789	0,6360	2,1	7,4	„
25. 8.	„	1275	10,82	0,0506	0,7303	0,5	6,8	„
28. 8.	„	1790	10,02	0,0774	0,6625	0,8	6,6	„
6. 10.	A. Cz.	1620	18,14	0,1030	1,0100	0,6	5,6	Gesund. Sehr viel Fleisch und Brot (fast keine Gemüse).
7. 10.	„	1480	19,19	0,1236	0,9454	0,6	4,9	

Tabelle B.

Datum	Name	Harnmenge in 24 Std. ccm	Total-N g	Aminosäuren-N g	Ammoniak-N g	In % des Total-N wurden gefunden an: Aminosäuren-N %	Ammoniak-N %	Bemerkungen
1909								
1. 9.	T. Y.	1250	14,09	0,0715	0,5013	0,5	3,6	Die beiden Personen haben fast gleiche Kost genommen.
1. 9.	K. J.	1280	12,60	0,1297	0,6149	1,0	4,9	
2. 9.	T. Y.	1280	15,74	0,1157	0,5104	0,7	3,2	
2. 9.	K. J.	1430	16,13	0,1450	0,6552	0,9	4,1	„
3. 9.	T. Y.	1290	13,61	0,1138	0,4831	0,8	3,6	
3. 9.	K. J.	990	14,13	0,1373	0,7066	1,0	5,0	„

III. Über die Aminosäurenmenge im Harn unter verschiedenen pathologischen Verhältnissen gibt Tabelle C Aufschluß.

Es muß noch weiteres Material gesammelt werden, um bestimmte Beziehungen zwischen den pathologischen Vorgängen und dem Aminosäurenstoffwechsel zu entdecken. Jedenfalls scheint aus der Tabelle hervorzugehen, daß auffallendere Störungen im Aminosäurenstoffwechsel, solange die Leberfunktion normal ist, nicht bestehen. Untersuchungen in dieser Richtung werden fortgesetzt.

Tabelle C.

Datum	Name	Krankheit	Harnmenge in 24 Std. ccm	Total-N g	Aminosäuren-N g	Ammoniak-N g	In % des Total-N wurden gefunden an: Aminosäuren-N %	Ammoniak-N %	Bemerkungen
1909									
4. 9.	A. R.	Lebercirrhose	1870	8,828	0,1269	0,6345	1,4	7,2	Suppe, Fleisch, Kartoffeln.
6. 9.	„	„	1600	10,600	0,1375	0,6592	1,3	6,2	„
7. 9.	„	„	2050	9,194	0,1172	0,5919	1,3	6,4	„
29. 9.	Fr.	„	1230	10,490	0,0915	0,4897	0,9	4,7	„
24. 8.	H.	Enteritis	1350	8,872	0,0945	0,3807	1,1	4,3	Breidiät, Milch.
30. 8.	M.	Icterus katarrhalis	1600	14,940	0,0670	0,6627	0,5	4,4	
17. 9.	K.	Diabetes	1300	12,900	0,1362	0,6825	1,1	5,3	Zucker im Harn sehr wenig. Gemischte Kost.
18. 9.	„	„	1200	12,690	0,0789	0,7350	0,6	5,8	Fast zuckerfrei.
20. 9.	„	„	1460	13,300	0,0606	0,7411	0,5	5,6	Zuckerfrei.
11.10.		Gicht	1630	7,69	0,0541	0,3638	0,7	4,7	Gerade Zeit des Anfalls. Sehr wenig Fleisch gegeben.
21. 9.	S.	Carcinoma uteri	800	12,23	0,1295	0,6230	1,1	5,1	Starker Ikterus. Gemischte Kost.
23. 9.	„	„	700	10,94	0,1285	0,4962	1,2	4,5	„
9. 9.	P.	Pneumonie	840	16,46	0,4330	1,113	2,6	6,8	Erster Tag der Krise. Flüssige Diät.
10. 9.	„	„	1120	12,13	0,2842	0,6469	2,3	5,3	Zweiter Tag d. Krise. Breidiät u. Milch. Getränke 1425ccm.
11. 9.	„	„	2567	14,44	0,2460	1,191	1,7	8,2	Dritter Tag d. Krise. Breikost u. Milch. Getränke 1575ccm.
13. 9.	„	„	2190	16,64	0,1486	0,857	0,9	5,2	Fünfter Tag d. Krise. Breidiät u. Milch. Getränke 1775ccm.
21.10.	R.	„	1300	19,36	0,0910	1,029	0,5	5,3	Erster Tag d. Krise. Milch und Brot.
22.10.	„	„	1000	11,38	0	0,5687	0	5,0	Zweiter Tag d. Krise. Milch und Brot.
23.10.	„	„	1920	15,38	0	0,8904	0	5,8	Dritter Tag d. Krise. Milch und Brot.
14. 9.	G.	Phthisis	760	8,768	0,1298	0,2460	1,5	2,8	Körpertemperatur 38° bis 39°. Appetit sehr schlecht. Wenig Milch und Kakao.
15. 9.	„	„	1030	10,440	0,0812	0,3604	0,8	3,5	„
16. 9.	„	„	480	6,162	0,0246	0,1344	0,4	2,2	„
19.10.	K. 26 j.	Typhus	1270	21,09	0,0889	0,8112	0,4	3,8	In dritter Woche. Immer hohes Fieber. Nur Milchdiät (ca. 1 l).
22.10.	E. Sch. 14 j.	„	1070	10,70	0	0,5969	0	5,6	In zweiter Woche. Immer hohes Fieber. Nur Milchdiät (ca. 1 l).
				Der Harn ist aber nach 4 Tagen (also 26. 10.) unter Zusatz von Toluol untersucht worden					
28.10.	„	„	880	8,812	0,0868	0,4104	1,0	4,7	In dritter Woche. Dito.

Über die Spaltungsprodukte des Nucleoproteides der Milchdrüse.

Von

J. A. Mandel.

(Aus dem chemischen Laboratorium des University and Bellevue Hospital Medical College, New York.)

(Eingegangen am 19. November 1909.)

Die Frage nach der Herkunft des Caseins ist vielfach bearbeitet worden, doch fehlen zurzeit noch alle sicheren Kenntnisse über die Entstehung dieses wichtigen Milchbestandteiles. Die ältere Annahme, daß das Casein durch einen enzymatischen Vorgang aus dem Lactalbumin hervorgehe, ist unrichtig und beruht auf der Verwechslung eines Alkalialbuminates mit Casein. Besser begründet ist die Anschauung, daß das Casein aus dem Protoplasma der Drüsenzellen stamme, und diese Anschauung steht in Übereinstimmung mit Heidenhains Theorie der Drüsensekretion. Basch[1]) behauptet, einen Körper von gleichen chemischen und physikalischen Eigenschaften wie das Kuhmilchcasein bei der Einwirkung der Nucleinsäure aus Milchdrüsen in saurer Lösung auf Rinderblutserum erhalten zu haben. Dieser Körper hatte dieselbe Löslichkeit, zeigte die gleiche Opalescenz mit Kalksalzen und die nämlichen Koagulationsverhältnisse wie gewöhnliches Casein, und daraus schließt er, daß es kein anderer Eiweißstoff als Casein gewesen sein kann. Basch behauptet, daß seine Milchdrüsennucleinsäure keinerlei Purinbasen bei der Spaltung mit Salzsäure lieferte, ebensowenig eine reduzierende Substanz, so daß eine Kohlenhydratgruppe fehlte. Diese Angaben stehen im Widerspruche zu den Resultaten von Mandel und Levene[2]) mit der Nucleinsäure, die nach Levenes[3]) Angabe aus Milchdrüsen hergestellt war; denn wir

[1]) Jahrb. f. Kinderheilk. 1898.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 46.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 32 und 37.

fanden nicht allein Adenin, Guanin, Thymin und Cytosin, sondern auch Lävulinsäure, und unsere Substanz gab eine ausgesprochene Orcinprobe.

Loebisch[1]) hat die Nucleinsäure aus Milchdrüsen nach einem Verfahren gewonnen, das eine Kombination der Angaben von Schmiedeberg und Levene darstellt; er bestätigte unsere Befunde insofern, als seine Substanz nicht nur die gewöhnlichen Purin- und Pyrimidinbasen, sondern auch Kohlenhydratgruppen enthielt. Loebisch kommt auch zu dem Schluß, daß die Theorie von Basch unhaltbar sei, nach der das Casein eine einfache Verbindung sei von Blutserum mit der Nucleinsäure oder naher verwandter Substanzen, wie der Thyminsäure, die bei dem Zerfall der Zellkerne in den Milchdrüsen entstehen. Er gründet seine Behauptung auf die experimentellen Ergebnisse.

Um nach Möglichkeit festzustellen, ob eine Beziehung zwischen der Zellsubstanz der Milchdrüsen und dem Casein obwaltet, habe ich eine große Menge Milchdrüsennucleoproteid nach Hammarstens Methode hergestellt. Die frischen Drüsen wurden, sobald sie vom Schlachthaus bezogen waren, möglichst vom Fett befreit, fein zerkleinert, in reichlichen Mengen eiskalten Wassers suspendiert, durch ein Tuch geseit und so lange mit Wasser gewaschen, bis dies nicht mehr opalescierend abfloß.

Das zurückbleibende Gewebe wurde dann ausgepreßt und mit viel Wasser ausgekocht. Nach 10 Minuten langem Sieden wurde die Masse sofort filtriert und mit der kleinsten notwendigen Menge Essigsäure gefällt. Das niedergeschlagene Nucleoproteid wurde nach dem Absetzen etliche Male mit kaltem Wasser gewaschen. Dann wurde es in wenig Soda gelöst, auf einer Nutsche über Papier abgesaugt und abermals mit Essigsäure gefällt und wie vorher ausgewaschen. Diese Behandlung wurde zweimal wiederholt und das Produkt schließlich mit Alkohol und Äther gewaschen und an der Luft getrocknet. Da die Substanz noch ein wenig Fett einschloß, wurde sie im Soxhletapparat erschöpfend ausgezogen, bis sie völlig frei von ätherlöslichen Extraktivstoffen war. Die Analyse dieses Nucleoproteids ergab folgende Daten:

Stickstoff = 15,72 % und Phosphor = 0,551 %.

---

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8.

Es enthielt ferner unbestimmbare Mengen von Schwefel und Asche. Beim Vergleich dieses Körpers mit dem nach Hammarstens Verfahren gewonnenen Nucleoproteid von Odenius[1]) erkennt man eine erhebliche Differenz, die wahrscheinlich durch eine Verunreinigung des Nucleoproteids mit mucinähnlichen Substanzen erklärt werden kann.

	Nucleoproteid von Odenius	Nucleoproteid von Mandel
N . . .	17,280 %	15,720 %
P . . .	0,277 %	0,551 %
S . . .	0,890 %	Spuren.

Nach der Hydrolyse mit Säuren erhält man mit Fehlingscher Lösung wie bei allen Nucleoproteiden eine Abscheidung von Kupferoxydul und Purin-Kupferverbindungen. Beim Kochen mit Orcin und Salzsäure erhält man eine positive Reaktion mit typischen Streifen im Amylalkoholauszuge. Mit Naphtoresorcin[2]) und Salzsäure entstand keine typische Reaktion; der Ätherextrakt hatte eine tiefrote Farbe und zeigte einen Absorptionsstreifen im Orange, während die darunter befindliche Flüssigkeit fluorescierte. Um die Zusammensetzung dieses Nucleoproteids mit der des Caseins zu vergleichen, wurden die Aminosäuren in der üblichen Weise nach der Hydrolyse mit Chlorwasserstoff- und Schwefelsäure bestimmt. Die Zahlen stellen den Durchschnitt aus mehreren Analysen dar:

	Nucleoproteid	Casein	
Glykokoll . . .	0,00 %	0,00 %	Fischer und Abderhalden[4])
Leucin	8,18 %	10,50 %	
Valin		1,00 %	
Glutaminsäure .	8,58 %	11,00 %	
Tyrosin	2,47 %	4,55 %	
Tryptophan . .	vorhanden	1,50 %	
Lysin	4,11 %	5,80 %	Hart[3])
Arginin	3,02 %	4,84 %	
Histidin	3,06 %	2,59 %	
Guanin	1,725 %		
Adenin	0,93 %		
Thymin	0,346 %		
Cytosin	0,732 %		

[1]) Malys Jahresber. 30: Upsala Läkaref. Forh., N. F., 5.
[2]) Mandel und Neuberg, diese Zeitschr. 13.
[3]) Hart, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33.
[4]) Fischer und Abderhalden, Zeitschr. f. physiol. Chem. 33.

Der Vergleich der Zahlen von Fischer und Abderhalden für die Monoaminosäuren und der von Hart für die Hexonbasen lehrt, daß eine weitgehende Übereinstimmung in der Zusammensetzung des Caseins und des Milchdrüsennucleoproteids besteht.

Diese Übereinstimmung spricht dafür, daß das Casein vielleicht durch einen Abbau des Drüsennucleoproteids unter Abspaltung von Kohlenhydraten, Purin- und Pyrimidinbasen entsteht, welch letztere vielleicht zum Wiederaufbau von neuem Nucleoproteid dienen.

Experimenteller Teil.

139,5 g trockenes Nucleoproteid wurden mit 1 Liter 20%iger Salzsäure übergossen und 6 Stunden im Ölbade erhitzt. Die Flüssigkeit wurde nach dem Einengen mit Salzsäuregas gesättigt und bis zum vollständigen Auskrystallisieren des Glutaminsäurechlorhydrats im Eisschrank belassen. Letzteres wurde abfiltriert und durch Umkrystallisieren gereinigt; nach Abzug des Ammoniumchlorids wurden 14,9 g salzsaure Glutaminsäure erhalten, was 8,58 g freier Glutaminsäure entspricht.

0,3789 g dieser Substanz ergaben 0,2972 g AgCl.

Berechnet für $C_5H_9NO_4$. HCl: Cl = 19,35%. Gefunden: Cl = 19,40%.

Die Filtrate vom Glutaminsäurechlorhydrat wurden vereinigt und durch Einengen im Vakuum die Salzsäure möglichst fortgeschafft. Der Rückstand wurde in reichlich Wasser gelöst und durch Behandlung mit Bleioxyd sowie Silbersulfat vollständig von Halogen befreit; Blei und Silber wurden darauf mit Schwefelwasserstoff ausgefällt. Die Schwefelsäure wurde dann quantitativ mit Bariumhydroxyd fortgeschafft und das Filtrat im Vakuum bis zum Beginne der Krystallisation eingeengt. Das ausgeschiedene Tryosin wurde abfiltriert und das Filtrat davon im Eisschranke aufbewahrt, bis alles Tyrosin ausgefallen war. Nach der Reinigung betrug die Menge des Tyrosins 3,46 g = 2,47%.

0,184 Substanz verbrauchten bei einer Stickstoffbestimmung 10,3 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4.

Berechnet für $C_9H_{11}O_3N$: N = 7,73%. Gefunden: N = 7,84%.

Das Filtrat von Tyrosin wurde abermals eingeengt und die ausgeschiedenen Krystalle mit Alkohol gewaschen. Sie gaben keine Millonsche Reaktion und enthielten 10,32% N (nach

Kjeldahl). Die Menge dieses Gemisches von Leucin und Aminovaleriansäure betrug 11,41 g oder 8,18%.

46,535 g trockenes Nucleoproteid wurden vollständig mit 25%iger Schwefelsäure hydrolysiert und dann die Hexonbasen in bekannter Weise bestimmt.

Histidin. Das Volumen der Histidinlösung war 600 ccm. 25 ccm derselben erforderten 11,5 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 = 0,3864 g N; in 600 ccm waren also 1,426 g Histidin oder 3,064%.

Das Histidin wurde als Dichlorid identifiziert.

Arginin. Die Argininlösung betrug 800 ccm.

25 ccm erforderten 10,1 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 = 0,4525 g N; in 800 ccm waren also 1,406 g Arginin oder 3,021%.

Lysin. An Lysinpikrat wurden 5,2801 g isoliert = 2,0555 g Lysin oder 4,111%. Das Lysinpikrat gab folgende analytische Daten. 0,221 g Substanz verbrauchten 29,1 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4.

Berechnet für $C_6H_{14}O_2N_2.C_6H_3O_7N_3$: N = 18,67%. Gefunden: N = 18,43%.

Zur Bestimmung der Purinbasen wurden 200 g trockenes Nucleoproteid 11 Stunden lang auf dem Wasserbade mit 3%iger Schwefelsäure erhitzt. Die Purinbasen wurden mit Phosphorwolframsäure gefällt, in die Silbersalze übergeführt und in üblicher Weise bestimmt. Die Ausbeuten waren folgende: Guanin 1,725 g; Adeninpikrat 2,508 g.

Die Pyrimidinbasen wurden in 50 g Nucleoproteid nach voraufgegangener Hydrolyse mit 25%iger Schwefelsäure nach Kossel-Jones ermittelt. Gefunden wurden 0,173 g Thymin und 1,378 g Cytosinsulfat.

Zur Lehre von der Harnstoffbildung.

Von

Albert A. Epstein, New York.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 19. November 1909.)

Schmiedebergs Theorie der Harnstoffbildung läßt den Harnstoff aus kohlensaurem Ammonium, d. h. aus 2 Molekülen Ammoniak hervorgehen. Die Theorien Hoppe-Seylers (Cyansäure + Ammoniak) und Salkowskis (Synthese aus 2 Molekülen Cyansäure[1]) sowie die Hofmeisters (oxydative Synthese) unterscheiden sich von der Schmiedebergs im wesentlichen dadurch, daß sie nur ein freies Molekül Ammoniak verlangen zur Anlagerung an eine Gruppe, in der ein N-Atom bereits mit einem C-Atom mehr oder weniger fest verbunden ist. In Nenckis Lehre (Entstehung des Harnstoffs aus carbaminsaurem Ammonium) bleibt es unentschieden, ob die Carbaminsäure als Zwischenprodukt zwischen kohlensaurem Ammonium und Harnstoff aufzufassen ist, oder aber als ein direktes Oxydationsprodukt der Aminosäuren, worin also N- und C-Atom noch nicht von einander getrennt wären. Im ersten Falle wäre also Nenckis Auffassung nur eine spezielle Erläuterung der Theorie Schmiedebergs, im zweiten hingegen würde sie in obigem Sinne denen von Hoppe-Seyler usw. nahe stehen.[2])

Die Entscheidung zwischen diesen verschiedenen Theorien bietet ein Interesse, das über die spezielle Lehre von der Ent-

[1]) Deren jedes unter Umständen mit einem Molekül NH_3 zu Harnstoff werden kann.

[2]) Vgl. hierzu Jacoby, Die Harnstoffbildung im Organismus, Ergebn. d. Physiol. 1, 532, 1902 u. Magnus-Levy, Physiologie des Stoffwechsels 1907, S. 100.

stehung des Harnstoffs hinausgeht. Es betrifft die Frage des Abbaus der Eiweißkörper. Eine viel erörterte Anschauung geht dahin, daß die Amidgruppe schon frühzeitig aus dem Verband der Aminosäuren gelöst, und der N-freie Rest erst dann abgebaut, oxydiert werde. Wenn diese Annahme für sämtlichen Stickstoff des Eiweißes oder doch für seinen größten Teil zutreffen sollte, aller oder fast aller Stickstoff die Stufe des freien Ammoniakmoleküls durchläuft, dann muß der Organismus tatsächlich die Fähigkeit haben, im Sinne von Schmiedebergs Lehre Harnstoff aus 2 Molekülen Ammoniak, d. h. aus kohlensaurem Ammonium aufzubauen.

Die Umwandlung von Ammoniak in Harnstoff ist durch zahlreiche Versuche am lebenden Tier und am überlebenden Organ, der Leber, sicher bewiesen. Aber keiner dieser Versuche läßt im Sinne der obigen Erörterungen eine Entscheidung darüber zu, ob wirklich zwei Moleküle Ammoniak ein Molekül Harnstoff gebildet haben, oder ob nicht jedesmal ein Molekül des zugeführten Ammoniaks an eine, aus dem Stoffwechsel hervorgehende fertige CN-Gruppe sich addiert habe.

Die folgende Arbeit versucht diese Alternative zu entscheiden. Die Versuchsanordnung hat Salkowski bereits im Jahre 1877[1]) angegeben und benutzt, freilich ohne zu entscheidenden Ergebnissen gekommen zu sein. „Wenn der Übergang von Ammoniaksalzen nichts mit der Cyansäure" (oder anderen CN-Gruppen des Eiweißes) „zu tun hat, so muß eine beliebig große Menge Ammoniak in Harnstoff übergeführt werden können. Die Grenze wäre dann allein in der toxischen Wirkung gelegen. Beruht er dagegen auf der Einwirkung des Ammoniaks auf Cyansäure" (oder andere CN-Gruppen), „so wird die Menge des Ammoniaks, welche höchstens in Harnstoff übergeführt werden kann, begrenzt sein durch die Menge des zerfallenden Körpereiweißes. Dann muß ein Teil des Ammoniaks unverändert ausgeschieden werden, sobald der darin eingeführte N den N-Gehalt des zerfallenden Eiweißes übertrifft."

Um ein Zahlenbeispiel zu geben: Wenn ein Tier 1 g N täglich in Form von Harnstoff (2,14 g) ausscheidet, und man gibt ihm 1,5 g N als Ammoniumsalz ein, so wird, gleichbleiben-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 1, 32 u. 374.

den Eiweißzerfall vorausgesetzt, im ersten Fall mehr als 2 g N als Harnstoff ausgeschieden werden, andernfalls aber weniger oder höchstens gerade 2 g.

Auf Vorschlag von Prof. Magnus-Levy und mit seiner Unterstützung bin ich von neuem an diese Frage mit der von Salkowski herrührenden Versuchsanordnung herangegangen.

Bei einem solchen Versuch ist es notwendig, den Eiweißumsatz möglichst niedrig zu gestalten, da es ja gilt, mehr Stickstoff in Form von Ammoniak einzuführen, als im Körper aus Eiweiß hervorgeht.

Die Schwierigkeiten bestehen in der Wahl eines geeigneten Versuchstieres, in der eines wenig giftigen Ammoniumsalzes, vor allem aber in der Beurteilung der Größe des Eiweißzerfalls.

Ich wählte das Kaninchen zu meinen Versuchen. Zwar ist sein Eiweißumsatz schwieriger zu beurteilen und weniger leicht gleichmäßig zu gestalten als der des Hundes; aber das Kaninchen bietet den Vorteil, daß man ihm größere Mengen körperfremder Stoffe einführen kann, ohne daß Erbrechen usw. erfolgt. Als Ammoniumsalz benutzte ich, statt des von Salkowski verwendeten essigsauren Salzes, das der Milchsäure. Die Erwartung, daß gerade sie entsprechend ihrem Auftreten im Stoffwechsel in größeren Mengen vertragen und verbrannt werden würde, bestätigte sich. Den Eiweißumsatz versuchte ich gleich früheren Autoren aus dem Schwefelumsatz zu beurteilen. Leider habe ich im Versuch 2 ein nach dieser Richtung hin nicht geeignetes, sehr schwefelreiches Futter gewählt, so daß die Schärfe der Beweisführung etwas zu wünschen übrig ließ. Trotzdem glaube ich, daß die Absicht erreicht und eine Entscheidung der Frage herbeigeführt worden ist.

Jedes Experiment dauerte 9 Tage. 1 oder 2 Tage dienten zur Gewöhnung des Tieres an das Futter, die 3 folgenden als Normaltage, an 1 oder 2 Haupttagen wurde das Ammoniumlactat eingegeben, und 3 Nachtage wurden angeschlossen.

Der alkalische Urin wurde, um Zersetzung zu verhindern, in Gefäßen aufgefangen, die mit etwas Salzsäure beschickt waren. Täglich um 9 Uhr früh wurde die Blase ausgedrückt, der Käfig mit Wasser nachgewaschen, und so der Urin von 24 Stunden gut abgegrenzt. Die Stühle wurden sorgfältig inspiziert und

bei Verdacht auf Eintreten von Diarrhöe kleine Mengen Opiumtinktur, 3 bis 5 Tropfen, mit dem Salz eingegeben.

Die wässerige Lösung des Ammoniumlactats wurde in 4 bis 5 Dosen über den Tag verteilt beigebracht. Die Eingabe in den Magen erwies sich als vorteilhafter als die rasche Injektion oder auch die über 1 Stunde dauernde langsame Infusion unter die Haut. Vergiftungserscheinungen und Todesfälle traten bei Einfuhr in den Magen nur selten auf. In diesen Fällen ergab die Sektion nur eine mäßige Hyperämie der Magenschleimhaut. Nach subcutaner Zufuhr starb eine Reihe von Tieren plötzlich wie im Chok. Bei anderen traten die Vergiftungserscheinungen langsamer auf: leichte und heftigere klonische und tonische Krämpfe mit Opisthotonus. Die Krämpfe waren häufig und konnten durch leichte Reize nach Zahl und Heftigkeit gesteigert werden. In den Intervallen sank der Kopf herab, die Tiere lagen in vollständigem Koma. Die Atmung war gewöhnlich unregelmäßig, langsam und oberflächlich. Dem Tode ging mehrstündige Anurie voraus, die Nieren zeigten bei der Sektion Schwellung, Rötung und Ödem. In einem Falle konnte das Tier durch künstliche Respiration und durch Einatmung von Chloroform gerettet werden.

Möglicherweise handelt es sich um Ammoniakvergiftung. Daß eine solche bei subcutaner Injektion leichter eintrat als bei Eingabe in den Magen, ist leicht verständlich. Denn bei letzterer wird das Ammoniak langsam und gleichmäßiger resorbiert und passiert zunächst die Leber; hier wird es, zum größten Teil wohl schon bei der ersten Passage, in Harnstoff umgewandelt und entgiftet.

Sämtliche Analysen wurden, mit Ausnahme von 2 oder 3 S-Bestimmungen und der der Milchsäure, doppelt ausgeführt.

Methoden:

1. Stickstoff im Urin (je 10 bis 20 ccm) und in der Lösung des milchsauren Ammoniums nach Kjeldahl.

2. Harnstoff (25 ccm) nach Mörner-Shöqvist. Die zuerst angewandte Modifikation von Braunstein wurde aufgegeben, da nur geringe Mengen von Hippursäure vorhanden waren.

3. Ammoniak nach Schlösing (25 bis 50 ccm Urin). Bestimmung nach 3 Tagen. Nach weiteren 2 Tagen kein neues

Ammoniak. Die Doppelbestimmungen zeigten vollständige Übereinstimmung.

4. Gesamt-Schwefel in je 25 ccm Urin nach der Salpeter-Sodaverbrennungsmethode. Die Resultate auf S berechnet.

5. Die Milchsäure wurde mit Äther extrahiert. 60 bis 70 ccm Urin etwas eingedampft, mit Ammoniumsulfat gesättigt, mit Schwefelsäure versetzt und im Perkolator 48 bis 72 Stunden extrahiert; der Äther nach 24stündigem Stehen in der Kälte abgegossen, freiwillig verdunstet und der Rückstand in wenig Wasser aufgenommen, auf ein bestimmtes Volum aufgefüllt und ein Teil davon mit $^n/_5$-Lauge titriert. Die Umrechnung auf Milchsäure gibt etwas zu hohe Werte, da noch andere Säuren im Ätherextrakt enthalten sind. Für meine Zwecke genügte dieser Näherungswert, da es nur darauf ankam, zu zeigen, daß der größte Teil der Milchsäure, 80 bis 95 %, verbrannt wurde.

In den gut verlaufenden Experimenten zeigten die Tiere keinerlei Beeinträchtigung durch das Ammoniaksalz, nur gelegentlich Abnahme der Freßlust.

Versuch 1.

Kaninchen, 2740 g, erhält nach 5tägiger Vorfütterung 208 ccm Ammoniumlactatlösung, und zwar

um 9 Uhr früh: 65 ccm per os,
um 1 Uhr 45 Min.: 39 ccm subcutan rechts,
um 4 Uhr 45 Min.: 39 ccm subcutan links,
um 7 Uhr abends: 65 ccm per os.

Der Titer der Lösung war 1 ccm gleich 9,4 mg NH_3 oder 7,7 mg N. Im ganzen wurden 1,602 g N eingeführt. Das Tier nahm etwas weniger Futter, zeigte aber sonst keine Störung, das Gewicht blieb fast unverändert. Der Urin (ca. 350 ccm am Haupttage ohne Spülwasser) war, wie auch in allen anderen Fällen, frei von Eiweiß und Zucker.

Die N-, Harnstoff-, NH_3- und S-Ausscheidung sind an den 3 Vortagen (Tag 3, 4 und 5) recht gleichmäßig. Bei einer täglichen Ausfuhr von 1,306 g N im Harn wurden am 6. Tage 1,602 g N(NH_3) gegeben.

Ebenso wie in den folgenden Versuchen wurde nicht aller eingegebene Stickstoff innerhalb von 24 Stunden ausgeschieden. Die Mehrausscheidung betrug am Haupttage 1,390 g, am 1. Nach-

Tabelle I.

Versuch 1. Kaninchen 2. Gewicht 2,740 g. Futter: 600 g gelbe Rüben täglich.

Datum	Versuchstag	Menge des gefütterten milchsauren Ammons g	N-Menge im gefütterten milchsauren Ammon g	Gesamt-N im Harn g	Durchschnittswert des Gesamt-N-Gehaltes in der Vorperiode g	Zunahme an N im Harn am Versuchs- und den folgenden Tagen g	Harnstoff-N g	Durchschnittswert des Harnstoff-N in der Vorperiode g	Zunahme an Harnstoff-N am Versuchs- und folgenden Tagen g	Ammoniak-N im Harn g	Gesamt Schwefel im Harn g	Durchschnittswert des Schwefelgehalts in der Vorperiode g	Zunahme des Schwefels am Versuchs- und folgenden Tagen g	Menge der ausgeschiedenen Milchsäure g
Mai														
19.—20.	1.			1,168										
20.—21.	2.			1,170										
21.—22.	3.			1,340			1,270			0,007	0,104			
22.—23.	4.			1,297	1,306		1,170	1,215		0	0,080	0,096		
23.—24.	5.			1,280			1,204			0	0,104			
24.—25.	6.	12,24	1,602	2,696		1,390	2,473		1,258	0,154	0,074		−0,022	< 0,486 [1]
25.—26.	7.	(= 10,29 Acid. lactic.)		1,708		0,402	1,487		0,272	0,056	0,102		+0,006	
26.—27.	8.			1,576		0,270	1,529		0,314	0,047	0,119		+0,023	
27.—28.	9.			1,295			1,166			0,014	0,098		+0,002	

[1]) Maximalwert (siehe S. 254). Sämtliche ätherlösliche Säuren nach dem Titrationswert als Milchsäure berechnet.

tage 0,402 g, am 2. Nachtage 0,270 g. In dem Mehr dieses letzten Tages noch zurückgehaltenen Ammoniakstickstoff zu sehen, erscheint nicht sehr plausibel. Es handelt sich wohl um eine Schwankung des Eiweißumsatzes, die entweder die Folge des Eingriffs war oder noch innerhalb der normalen Schwankungen liegt. Im ganzen wurden an 3 Tagen fast 2 g N mehr ausgeschieden, während 1,6 g als Ammoniumsalz gegeben waren. Die Schwefelausscheidung ist am Haupttage etwas gefallen, am 1. Nachtag wieder ein wenig gestiegen. Soweit der Schwefelumsatz sich beim Kaninchen als Maßstab des Eiweißumsatzes verwerten läßt, berechtigt er hier zu dem Schluß, daß jedenfalls am Haupttag der Eiweißumsatz nicht gestiegen ist. Die Steigerung an diesem Tage, und nur auf diesen kommt es an, rührt wohl ausschließlich von dem eingeführten Ammoniak her.

Der Harnstoff ist von 1,215 g an den Vortagen auf 2,473, also um 1,258, d. h. um 103%, gestiegen. Für unsere Betrachtung gestaltet sich die Rechnung jedoch noch günstiger. Von dem aus Eiweiß hervorgehenden Stickstoff kommt nämlich ein Teil gar nicht als CN-Gruppen für eine Paarung mit NH_3 in Betracht, nämlich 2 von den 3 N-Atomen, die in der Guanidingruppe des Arginins stecken. Sie fallen direkt als Harnstoff heraus. Das gleiche würde gelten für weitere, noch unbekannte, ähnlich gebaute Gruppen des Eiweißmoleküles. Schätzt man die Menge dieses Argininstickstoffes auf 10% — einzelne Eiweißkörper enthalten weniger, andere mehr — so kämen für den Vergleich der Harnstoffwerte im Sinne unserer Betrachtung nur 90% von jenen 1,306 g, das heißt 1,117 in Betracht, die Zunahme betrüge nicht 103 sondern ca. 115%.

Knapp 10% des eingegebenen NH_3 sind am Haupttag unverändert ausgeschieden, von der eingegebenen Milchsäure weniger als 5%.

Versuch 2.

In diesem und mehreren anderen nicht geglückten Versuchen wurde das Ammoniaksalz an zwei aufeinanderfolgenden Tagen gegeben.

Da der Stickstoff des Ammoniaks im Versuch 1 nicht vollständig in 24 Stunden ausgeschieden worden war, so wurde hier versucht, durch Superposition am zweiten Tage eine große

Tabelle II.

Versuch 2. Kaninchen 6. Gewicht 2350 g. Futter: Kohlrabi = 500 g täglich.

Datum	Versuchstag	Menge des gefütterten milchsauren Ammon. g	Milchsäuregehalt des gefütterten milchsauren Ammon. g	N-Gehalt d. gefütterten milchsauren Ammon. g	Gesamt-N Harn g	Durchschnittswert des Gesamt-N-Gehaltes in der Vorperiode g	Zunahme an Gesamt-N im Harn am Haupttage und in der Nachperiode g	Harnstoff-N im Harn g	Durchschnittswert des Harnstoff-N in der Vorperiode g	Zunahme an Harnstoff-N am Haupttage und in der Nachperiode g	Ammoniak im Harn g	Gesamtschwefel im Harn g	Menge der ausgeschiedenen Milchsäure g
Juli													
3.—4.	1.				1,508	1,720		1,389	1,602			0,365	
4.—5.	2.				1,881			1,749				0,370	
5.—6.	3.				1,771			1,669				0,370	
6.—7.	4.	12,03	10,13	1,576	2,897		1,177 + 2,226 = 3,403	2,694		1,092	0,053	0,471	<0,913[1])
7.—8.	5.	15,490	13,04	2,027	3,946		0,624 + 0,934 = 1,558	3,649		2,047	0,094	0,564	
8.—9.	6.			3,603	2,344		= 4,961	2,150		0,548		0,487	
9.—10.	7.				2,654			2,503		0,901		0,518	
10.—11.	8.				2,002			1,862				0,540	
11.—12	9.	[2])			1,127			0,933				0,180	
12.—13.	10.	Dextringabe und			0,618								
13.—14.	11.	Kartoffel-Fütterung			0,332								

[1]) Maximalwert (s. oben S. 254).

[2]) Diese 3 Tage, an denen Dextrin in der Menge von 25,0 g pro die dargereicht wurde, zeigen die herabsetzende Wirkung auf den Stickstoff- resp. Eiweißstoffwechsel.

Zunahme des N wie des Harnstoffs zu erreichen. Leider erwies sich das wegen Rübenmangels gewählte Futter, Kohlrabi, als wegen seines N- und S-Reichtums für unsere Zwecke als wenig geeignet.

Kaninchen, 2,350 g Futter, 500 g Kohlrabi. Am 4. Tage Ammoniumlactat gleich 1,5764 g N in 4 Dosen, am 5. Tag milchsaures Ammonium gleich 2,027 g N in 5 Dosen. Keinerlei Störungen. Das Tier fraß sein Futter vollständig, das Gewicht blieb konstant.

Die N-Ausscheidung der Normaltage betrug 1,72 g N. Sie stieg am 1. Haupttag um 1,177 g, am 2. um 2,226 g, d. h. um rund 130%. In ähnlichem Verhältnis nahm auch die Harnstoffausscheidung zu. An den 2 Haupttagen wurden 3,4 g N mehr ausgeschieden, während 3,6 g in Form von Ammoniumsalz zugeführt worden waren.

Man könnte also zunächst mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit das Ergebnis dieses Versuches dahin deuten, daß hier Harnstoff aus zwei Molekülen des eingegebenen Ammoniaks gebildet worden sei. Doch scheint eine Erhöhung des Eiweißumsatzes stattgefunden zu haben. Am 4., 5., 6. und 7. Tage werden insgesamt 4,96 g N mehr ausgeschieden, als dem Durchschnitt der vorangegangenen Tage entspricht. Eingegeben waren aber nur 3,6 g N. Aus diesem Grund verzichte ich auf eine eingehende Erörterung dieses Versuches, aus dem ein strikter Beweis für die Schmiedebergsche Theorie nicht hergeleitet werden kann. Bemerkt sei nur, daß auch hier trotz der großen Gaben Ammoniak und Milchsäure mehr als 90% davon im Organismus umgewandelt worden sind.

Versuch 3.

In einer 3. Reihe von Versuchen bemühte ich mich, den Eiweißumsatz möglichst niedrig zu halten, um nicht so viel Ammoniak zuführen zu müssen, und so dessen toxische Wirkung, die Erhöhung des Eiweißumsatzes, möglichst zu vermeiden. Nach Salkowskis Vorgang versuchte ich es mit Kartoffelfütterung. Die Versuche scheiterten, die Tiere bekamen entweder Durchfälle oder starben. Schließlich gab ich je 150 g Kohlrabi und Kartoffeln. Es gelang, den Eiweißumsatz durch größere Mengen von Dextrin, das in konzentrierter Lösung

Tabelle III.

Versuch 3. Kaninchen 9. Gewicht 2100 g. Futter: {150 g Kohlrabi, 150 g Kartoffeln, 6 bis 25 g Dextrin} täglich.

Datum	Versuchstag	Menge des gefütterten milchsauren Ammon. g	Milchsäuregehalt des gefütterten milchsauren Ammon. g	N-Gehalt d. gefütterten milchsauren Ammon. g	Gesamt-N im Harn g	Durchschnittswert des Gesamt-N im Harn in der Vorperiode g	Zunahme an Gesamt-N im Harn am Haupt- und folgenden Tagen g	Harnstoff-N im Harn g	Durchschnittswert des Harnstoffs-N g	Zunahme an Harnstoff-N am Haupttage und in der Nachperiode g	Ammoniak-N im Harn g	Gesamt Schwefel im Harn g	Menge des gefütterten Dextrins g
Juli													
21.—22.	1.				0,941								
22.—23.	2.				0,697	0,570 (2 Tage)							18,8
23.—24.	3.				0,549			0,478	0,499 (2 Tage)			0,167	25,0
24.—25.	4.				(0,262[2])	(0,467) 3 Tage		(0,213)				(0,078)	12,5
25.—26.	5.				0,591			0,520	(0,403) 3 Tage		Spur	0,132	6,3
26.—27.	6.	8,513	7,160	1,114	1,450		0,880	1,322		0,823 (0,919)	0,039	0,173	20,0
27.—28.	7.	(+ 2,0 g freie[1])			0,616		0,046 1,092	0,580		0,081	0	0,238	12,5
28.—29.	8.	Milchsäure)			0,686		0,116	0,648		0,149		0,168	15,0
29.—30.	9.				0,441			0,409				0,199	20,0

[1]) Um im Blut die „Bindung" von NH_3 an eine starke Säure zu erleichtern.

[2]) Nur das halbe Futter verzehrt.

2- bis 3mal am Tage eingeflößt wurde, stark herabzudrücken (vgl. auch die letzten Tage des Versuchs 2, Tabelle II).

Kaninchen Nr. 9, Gewicht 2100 g. 150 g Kohlrabi und 150 g Kartoffeln, 6 bis 25 g Dextrin. Dem Ammoniumlactat (8,71 g gleich 1,114 g N) wurden noch 2 g Milchsäure beigefügt, um gegenüber etwaigen Schädigungen einer Ammoniakanhäufung im Blut etwas mehr Säure zur Verfügung zu stellen. Auch hier wurde die Eingabe der Salzlösung über den Tag verteilt.

Unter den 3 Vortagen zeigt der zweite eine außerordentlich niedrige N-Ausscheidung, wohl als Folge der hohen Dextrinzufuhr am vorigen Tage. Urin war nicht verloren gegangen, auch nicht in der Blase zurückgeblieben. Das Mittel von 2 Normaltagen beträgt 0,57 g N, das von dreien 0,463 g. Am 1. Haupttage werden 0,880 g N mehr ausgeschieden, an den beiden folgenden Nachtagen noch 0,046 und 0,116 g, in diesen 3 Tagen zusammen 1,092 g. Eingegeben waren 1,142 g N als Ammoniak. Hier scheint eine Erhöhung des Eiweißzerfalles in irgend beträchtlicherem Grade ausgeschlossen. Ich glaube nicht, daß man aus den steigenden Schwefelwerten des Harns darauf schließen muß. Das Futter war äußerst schwefelreich, das Verhältnis zwischen N und S beträgt anfangs 3 zu 1 und fällt bis auf 2 zu 1, und die S-Resorption und Ausscheidung scheint bei diesem Futter sehr unregelmäßig[1]) zu sein.

In Anbetracht der absolut niedrigen N-Werte der 3 Nachtage könnte es sich auch nur um eine höchst geringe Zunahme des Eiweißumsatzes handeln. Dem gegenüber steht eine Steigerung der Harnstoffausscheidung von 0,499 g auf 1,322 g, d. h. um 0,823 g, d. h. um 164 % oder, da nur 90 bis 95 % davon in Betracht kommen (s. S. 256), beträgt die Steigerung 183 %.

Dieser Wert ist beweisend. Hier erscheint es ausgeschlossen, daß jedes Molekül des eingeführten Ammoniaks ein entsprechendes, noch mit C verbundenes N-Atom im Organismus zur Paarung vorgefunden habe. Hier müssen 2 Moleküle Ammoniak

[1]) Das geht auch aus folgender Reihe hervor, wo bei Kohlfütterung ohne Eingabe von Ammoniaksalz die N- und S-Ausscheidung betrug:

	1.	2.	3.	4.
N	1,127	1,260	1,665	1,302
S	0,259	0,316	0,396	0,484

mit Kohlensäure ein Atom Harnstoff gebildet haben. Damit ist die Möglichkeit dieser Harnstoff-Bildung im Organismus im Sinne Schmiedebergs erwiesen, und wie ich glaube auch ihr tatsächliches Vorkommen. Denn für eine Entstehung von Harnstoff aus Cyansäure, die Hoppe-Seyler angenommen hat, fehlt es an jedem Beweis. Die Existenz von Cyangruppen, an die man in jenen Zeiten noch glauben konnte, ist ganz unwahrscheinlich geworden. Die Entstehung von Harnstoff aus carbaminsaurem Ammonium (Nencki) ist durchaus möglich, stellt aber nur eine Zwischenstufe auf dem Wege vom kohlensauren Ammonium zum Harnstoff dar. Und auch Hofmeisters Experimente, in denen es gelang durch Oxydation im Reagensglas den Vorgang im Organismus nachzuahmen, d. h. Harnstoff zu erhalten, sind kein Beweis gegen die Schmiedebergsche Theorie.

Zur Methodik der Lecithinbestimmung.

Von

J. Nerking.

(Aus der biochem. Abteilung des Instituts für experim. Therapie zu Düsseldorf.)

(Eingegangen am 19. November 1909.)

Zur quantitativen Bestimmung des Lecithins stehen uns eine Reihe von Verfahren zur Verfügung, die aber alle mit mehr oder weniger Mängeln behaftet sind; einesteils geben sie nicht annähernd quantitativ die Menge der Lecithine an, andernteils sind einige sicher mit einer Zersetzung und Aufspaltung des Lecithinkomplexes verbunden, so daß eine Berechnung der Lecithinmenge aus den erhaltenen Analysenzahlen illusorisch wird. Lange Zeit begnügte man sich ja mit der klassischen Methode von Hoppe-Seyler-Diakonow, die in einer ätherisch-alkoholischen Extraktion der zu untersuchenden Substanz mit Bestimmung des in dem Äther-Alkoholextrakt vorhandenen Phosphors bestand, der Phosphor wurde dann als Distearyllecithin berechnet; später, als man erkannte, daß es verschiedene Arten von Lecithin gibt, begnügte man sich nicht mehr mit der bloßen Bestimmung von P in den Extrakten, sondern verlangte außerdem eine Bestimmung des N darin. Solange wir über die Art und Menge der in den Organen und Gewebssäften vorhandenen Phosphatide noch so wenig unterrichtet sind, wird es richtig sein, überhaupt eine Berechnung als Lecithin zu unterlassen, sondern einfach den in den Extrakten gefundenen P anzugeben.

Bezüglich der Frage, ob man für Bestimmung des Extraktes und des darin enthaltenen P von frischem oder getrocknetem Material ausgehen soll, gehen die Ansichten auseinander; während Soxhlet und Vageler stets von frischem Material ausgehen,

da beim Trocknen der Substanzen eine Zersetzung des Lecithins stattfindet, eine Beobachtung, die auch ich machen konnte, verwendet Erlandsen stets in geeigneter Weise getrocknetes Material. Was die Wahl des Extraktionsmittels anlangt, so verwenden die meisten Autoren Alkohol; bei Verwendung dieses Extraktionsmittels ist jedoch sicher darauf Rücksicht zu nehmen, daß auch andere P-haltigen Substanzen, Glycerophosphate, selbst anorganische Phosphate in Gemengen mit anderen Substanzen in Alkohol übergehen können; ferner können P-haltige Eiweißkörper durch längeres Kochen mit Alkohol zersetzt werden und einen Teil ihres P abgeben. Es ist demnach nötig, den alkoholischen Extrakt zu verdunsten und den Rückstand mit Äther oder Chloroform aufzunehmen und nur diesen P in dem Äther bzw. Chloroformextrakt als Lipoid-P in Rechnung zu stellen. Lecithalbumine werden schon durch warmen Alkohol gespalten und geben ihr Lecithin ab, das dann aus dem verdunsteten alkoholischen Extrakt ebenso wie das primär vorhandene freie Lecithin in Äther oder Chloroform übergeht. Bei meinen früheren Untersuchungen über die Verteilung des Lecithins im Organismus verfuhr ich so, daß ich das betreffende Material fein zerquetscht einige Stunden bei 60° C oder im Vakuum trocknete und dann zuerst 6 bis 12 Stunden bei 60° mit 96%igem Alkohol auszog, den Rückstand wieder trocknete und nun mit Chloroform bis zur Erschöpfung auszog; beide Auszüge wurden verdunstet, Rückstand mit Chloroform aufgenommen, Chloroformauszug verascht und zur P-Bestimmung verwandt; später verzichtete ich auf anfängliche Trocknung und ging direkt von frischem Material aus. Dieselbe Methode wandte neuerdings auch Glikin an. Von dem Bestreben ausgehend, das Lecithin durch fraktionierte Fällung aus dem Fettauszug zu gewinnen und zu reinigen und event. direkt zu wägen, haben zuerst Altmann, dann Zülzer das Aceton als Fällungsmittel benutzt. Ich habe nachgewiesen, daß ca. 50% des Lecithins durch Aceton nicht gefällt werden, sondern in der äther- oder chloroform-acetonigen Lösung gelöst bleiben.

Für das zuerst von Thudichum, dann von Bergell benutzte Verfahren der Ausfällung des Lecithins mit Cadmiumchlorid hat Erlandsen unzweifelhaft nachgewiesen, daß damit

eine Zersetzung und wahrscheinlich eine Abspaltung von Fettsäuren verbunden und das Lecithin aus der Cadmiumverbindung als solches nicht mehr zu regenerieren ist. Zur Trennung der Gehirnlipoide hat ganz neuerdings Fränkel wieder die fraktionierte Extraktion benutzt; er extrahiert zunächst mit Aceton, entfernt dadurch hauptsächlich Cholesterin, dann mit Petroläther, Benzol, Alkohol absol., 85%igem Alkohol, Äther. Ich habe nach der Fränkelschen Methode ein Affengehirn extrahiert und die einzelnen Extrakte auf ihren P-Gehalt untersucht. Sämtliche Extraktionen wurden so lange fortgesetzt, bis im veraschten Extrakt nur noch Spuren oder gar kein P mehr nachweisbar war. Die Gesamtdauer der Extraktion betrug ca. 746 Stunden; vor jeder Extraktion wurde das Material immer wieder fein pulverisiert. Das Ergebnis war folgendes:

Verarbeitete Menge: 28,25 g.

A. 1. Aceton, kalt, 24 Std.; verdunstet, in reinem Aceton wieder aufgenommen, verdunstet, verascht: 0,0303 g $Mg_2P_2O_7$.
2. Aceton, heiß, 6 Std.: 0,0214 g $Mg_2P_2O_7$.
3. Aceton, heiß, 6 Std.: 0,0134 g $Mg_2P_2O_7$.
4. Aceton, heiß, 8 Std.: 0,0126 g $Mg_2P_2O_7$.
5. Aceton, heiß, 8 Std.: 0,0246 g $Mg_2P_2O_7$.
6. Aceton, heiß, 8 Std.: 0,0136 g $Mg_2P_2O_7$.
7. Aceton, heiß, 18 Std.: 0,0351 g $Mg_2P_2O_7$.
8. Aceton, heiß, 30 Std.: 0,0216 g $Mg_2P_2O_7$.
9. Aceton, heiß, 24 Std.: 0,0080 g $Mg_2P_2O_7$.
10. Aceton, heiß, 24 Std.: 0,0018 g $Mg_2P_2O_7$.

B. Petrolätherextraktion:
1. 24 Std.: 0,0249 g $Mg_2P_2O_7$.
2. 18 Std.: 0,0000 g $Mg_2P_2O_7$.

C. Benzolextraktion:
1. 16 Std.: 0,0158 g $Mg_2P_2O_7$.
2. 16 Std.: 0,0033 g $Mg_2P_2O_7$.

D. Alcohol absol.-Extraktion:
1. 12 Std.: 0,0115 g $Mg_2P_2O_7$.
2. 24 Std.: 0,0252 g $Mg_2P_2O_7$.
3. 24 Std.: 0,0091 g $Mg_2P_2O_7$.
4. 24 Std.: 0,0020 g $Mg_2P_2O_7$.

E. Alkohol- (85%) Extraktion:

1. 48 Std.: 0,0111 g $Mg_2P_2O_7$.
2. 48 Std.: 0,0062 g $Mg_2P_2O_7$.
3. 72 Std.: 0,0064 g $Mg_2P_2O_7$.
4. 72 Std.: 0,0033 g $Mg_2P_2O_7$.

F. Atherextraktion:

1. 96 Std.: 0,0000 g $Mg_2P_2O_7$.

G. Mit Alc. absol. 72 Std. bei 60° C, dann 24 Std. mit Chloroform.

Im Extrakt keine Phosphorsäure mehr.

Insgesamt ergaben sich in den Extrakten 0,3012 g $Mg_2P_2O_7$, entsprechend 0,0841 g P org. als Lipoid

$= 0{,}297\%$.

Die Verteilung auf die einzelnen Auszüge ist folgende:

1. Acetonauszug: 0,1824 g $Mg_2P_2O_7$
   $= 0{,}0509$ g P
   $= 60{,}57\%$ des Ges.-P.
2. Petrolätherauszug: 0,0249 g $Mg_2P_2O_7$
   $= 0{,}0069$ g P
   $= 8{,}26\%$ des Ges.-P.
3. Benzolauszug: 0,0191 g $Mg_2P_2O_7$
   $= 0{,}0053$ g P
   $= 6{,}34\%$ des Ges.-P.
4. Alkohol absol.-Auszug: 0,0478 g $Mg_2P_2O_7$
   $= 0{,}0133$ g P
   $= 15{,}87\%$ des Ges.-P.
5. Alkohol- (85%) Auszug: 0,0270 g $Mg_2P_2O_7$
   $= 0{,}0066$ g P
   $= 7{,}85\%$ des Ges.-P.

Das einzige uns bis jetzt bekannte Phosphatid, das in heißem Aceton löslich ist, ist das Lecithin; der in den Acetonauszügen vorhandene Phosphor dürfte also hauptsächlich oder allein diesem angehören.

20 g des Affenhirnbreies, nach der Alkohol-Chloroformmethode behandelt, lieferten 2,3746 g Fett $= 11{,}87\%$; diese ergaben bei der Veraschung: 0,2605 g $Mg_2P_2O_7$

$= 0{,}07275$ g P
$= 0{,}364\%$ P.

Meine nächsten Versuche bezweckten nun, systematisch zu untersuchen, ob reines Lecithin aus seinen Lösungen durch verschiedene Acetonmischungen sich niederschlagen und so quantitativ abscheiden lasse. Aus alkoholischen Lösungen des Lecithins fällt Aceton, selbst in vielfachem Verhältnis zugesetzt, fast gar kein Lecithin; aus ätherischer Lösung wird es unter bestimmten Verhältnissen gefällt. Weniger günstige Resultate ergeben die Fällungen aus Chloroform- oder Petrolätherlösungen. Zum Nachweis benutzte ich die P-Bestimmung, die einmal in dem abgeschiedenen Niederschlag und dann ferner in dem Filtrat ausgeführt wurde.

Alle Versuche wurden ausgeführt mit einem hochwertigen Lecithin (Ovolecithin Billon, F^a^ Poulene frères, Paris), das bei der Analyse einen P-Gehalt von 3,94% und einen N-Gehalt von 1,88% aufwies, sich somit als fast reines Distearyllecithin erwies. Ich gebe die Versuche nunmehr in chronologischer Folge wieder. Bei allen Versuchen wurde von dem Fällungsmittel so viel zugesetzt, bis weiterer Zusatz keine neue Fällung mehr hervorrief. Bei den ersten Versuchen wurden immer annähernd 0,2 g Lecithin gelöst.

1. Versuch

Lecithin gelöst in Chloroform, gefällt mit Aceton (aus der Bisulfitverbindung).

Fällung ergab: 0,0180 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0064 g $Mg_2P_2O_7$.

2. Versuch.

Lecithin in Petroläther gelöst, gefällt mit Aceton, enthaltend 1% Citronensäure.

Fällung ergab: 0,0134 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0070 g $Mg_2P_2O_7$.

3. Versuch.

Lecithin in Petroläther gelöst, gefällt mit Aceton, enthaltend 1,5% Citronensäure.

Fällung ergab: 0,0124 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0082 g $Mg_2P_2O_7$.

4. Versuch.

Lecithin in Chloroform gelöst, gefällt mit Aceton, enthaltend 1% Citronensäure.

Fällung ergab: 0,0056 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0202 g $Mg_2P_2O_7$.

5. Versuch.

Lecithin gelöst in Äther, gefällt mit Aceton, enthaltend 1,5% Citronensäure.

Fällung ergab: 0,0122 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0120 g $Mg_2P_2O_7$.

6. Versuch.

Lecithin gelöst in Äther, gefällt mit Aceton, enthaltend 1% Weinsäure.

Fällung ergab: 0,0172 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0062 g $Mg_2P_2O_7$.

7. Versuch.

Lecithin gelöst in 10 ccm Äther, gefällt mit 20 ccm Aceton, enthaltend 0,75% Weinsäure + 0,75% Citronensäure. Weiterer Acetonzusatz ergab keine Fällung mehr.

Fällung enthielt: 0,0200 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0056 g $Mg_2P_2O_7$.

8. Versuch.

Lecithin in Äther gelöst, gefällt mit Aceton, enthaltend 2% Weinsäure.

Fällung ergab: 0,0196 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat; 0,0054 g $Mg_2P_2O_7$.

9. Versuch.

Lecithin in Äther gelöst, gefällt mit Aceton, enthaltend 3% Weinsäure.

Fällung ergab: 0,0174 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0082 g $Mg_2P_2O_7$.

10. Versuch.

Lecithin gelöst in Chloroform, gefällt mit Mischung von Acetessigäther und Aceton (1:1) enthaltend 1,5% Weinsäure.

Fällung ergab: 0.0202 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0060 g $Mg_2P_2O_7$.

11. Versuch.

Lecithin gelöst in Chloroform, gefällt mit Acetessigäther und Aceton (1:1), enthaltend 2% Weinsäure.

Fällung ergab: 0.0218 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0045 g $Mg_2P_2O_7$.

12. Versuch.

Lecithin gelöst in Äther, gefällt mit Acetessigäther und Aceton (1:1), enthaltend 2% Weinsäure.

Fällung ergab: 0,0226 g $Mg_2P_2O_7$.
Filtrat: 0,0033 g $Mg_2P_2O_7$.

Ein weiterer Versuch, das Lecithin aus Äther wie auch aus Chloroformlösung durch Mischung von 2 Teilen Aceton, 1 Teil Acetessigäther,

enthaltend 2% Weinsäure, auszufällen, verlief ebenfalls nicht quantitativ; stets enthielt das Filtrat, wenn auch geringe Mengen, Phosphor. Eine Steigerung des Zusatzes von Weinsäure bis zu 4, 8 und 10% zum Fällungsmittel ergab ebenfalls keine quantitative Fällung, ebensowenig der Ersatz der Weinsäure durch Oxalsäure.

13. Versuch.

1.17 g Lecithin gelöst in 250 ccm Äther; 100 ccm der ätherischen Lösung direkt eingetrocknet mit Soda-Salpeter und verascht, ergab:

0,0646 g $Mg_2P_2O_7$.

100 ccm ätherischer Lecithinlösung gefällt mit Mischung von 100 ccm Aceton, 100 ccm Acetessigäther, 4 g Weinsäure.

Fällung ergab: 0,0538 g $Mg_2P_2O_7$.

Filtrat: 0,0111 g $Mg_2P_2O_7$.

Der Zusatz von organischen Säuren zu Aceton oder Acetonacetessigäthermischungen bewirkt also keine quantitative Fällung des Lecithins aus seinen Lösungen; bessere Resultate erzielt man durch Zusatz von Salzen zu dem Fällungsmittel Aceton.

14. Versuch.

Lecithin in 200 ccm Äther gelöst, 50 ccm direkt verdunstet und verascht ergaben:

0,0392 g $Mg_2P_2O_7$.

50 ccm + 200 ccm mit $CaCl_2$ gesätt. Aceton gefällt; Fällung nicht quantitativ. 50 ccm + 200 ccm Aceton + 5 ccm 10%iger $CaCl_2$-Lösung.

Fällung enthielt: 0,0380 g $Mg_2P_2O_7$.

50 ccm + 120 ccm Aceton + 2 ccm gesättigter alkoholischer $MgCl_2$-Lösung nach 1stündigem Stehen im Eisschrank filtriert.

Fällung ergab: 0,0384 g $Mg_2P_2O_7$.

Filtrat mit Soda-Salpeter verdunstet, verascht, ergab auch nach 24stündigem Stehen in der Wärme keinen Niederschlag mit molybdänsaurem Ammonium.

15. Versuch.

Lecithin in 200 ccm Äther gelöst. 50 ccm direkt bestimmt ergaben:

0,0482 g $Mg_2P_2O_7$.

50 ccm gefällt mit 100 ccm Aceton + 10 Tropfen gesätt. alkohol. $MgCl_2$-Lösung; 1 Stunde im Eisschrank.

Fällung ergab: 0,0488 g $Mg_2P_2O_7$.

Filtrat: 0.

50 ccm Lecithinlösung gefällt mit 100 ccm Aceton + 25 Tropfen gesätt. alkohol. $MgCl_2$-Lösung.

Fällung ergab: 0,0484 g $Mg_2P_2O_7$.

Filtrat: 0.

50 ccm Lecithinlösung gefällt in 100 ccm Aceton + 2 Tropfen gesätt. alkohol. $MgCl_2$-Lösung.

Fällung ergab: 0,0415 g $Mg_2P_2O_7$.

Filtrat: 0,0060 g $Mg_2P_2O_7$.

16. Versuch.

Lecithin gelöst in 250 ccm Äther:

50 ccm direkt verascht ergaben: 0,0528 g $Mg_2P_2O_7$.

50 ccm nochmals direkt bestimmt ergaben: 0,0523 g $Mg_2P_2O_7$.

50 ccm gefällt mit 100 ccm Aceton + 10 Tropfen gesättigter alkoholischer $MgCl_2$-Lösung.

Fällung ergab: 0,0494 g $Mg_2P_2O_7$.

Filtrat: 0,0015 g $Mg_2P_2O_7$.

50 ccm ebenso gefällt ergaben:

Fällung: 0,0508 g $Mg_2P_2O_7$.

Filtrat: 0,0018 g $Mg_2P_2O_7$.

17. Versuch.

Lecithin in 250 ccm Äther gelöst; zweimal 50 ccm direkt bestimmt ergaben: 0,0471 g $Mg_2P_2O_7$.

0,0446 g $Mg_2P_2O_7$.

Im Mittel: 0,0458 g $Mg_2P_2O_7$.

Zweimal 50 ccm + 100 ccm Aceton + 2 ccm kalt gesätt. alkohol. $MgCl_2$-Lösung ergaben:

0,0455 g $Mg_2P_2O_7$

und 0,0451 g $Mg_2P_2O_7$.

Die Filtrate mit Soda-Salpeter verdunstet und verascht ergaben auch nach 24stündigem Stehen in der Wärme keine Fällung von Ammoniummolybdänsäurephosphat mehr.

Durch Zusatz von wenig gesättigter alkoholischer Chlormagnesiumlösung läßt sich also durch Aceton das Lecithin aus ätherischer Lösung quantitativ ausfällen. Ob es sich um ein Mg-Salz des Lecithins handelt oder, was wahrscheinlicher ist, um eine einfache physikalische Niederschlagsreaktion, müssen weitere Versuche lehren, ebenso inwieweit sich die Methode auf die Abscheidung des in den Organen enthaltenen Lecithins eignet: einzelne Vergleichsversuche, die Herr Steincke in letzterer Hinsicht bei Nebennierentumoren anstellte und über die er ausführlich berichten wird, scheinen für die Anwendbarkeit zur quantitativen Bestimmung des Lecithins in Organen usw. zu sprechen.

Über die Wirkung von Quecksilbersalzen auf die Autolyse.

Von

Mario Truffi.

(Aus dem Insitute für spezielle Pathologie innerer Krankheiten der k. Universität Pavia.)

(Eingegangen am 27. November 1909.)

Aus einer Reihe von Untersuchungen aus dem hiesigen Institut[1]) hat sich ergeben, daß nicht nur Metallhydrosole, sondern auch Metallsalze in verschiedenem Maße das Phänomen der Autolyse beeinflussen.

Besagte Untersuchungen wurden am Silber, Eisen, Platin, Mangan, Aluminium, Kobalt, Gold, Palladium, Natrium, Calcium, Blei, Nickel, Magnesium, Cadmium, Strontium durchgeführt und haben den Nachweis erbracht, daß — mit Ausnahme der Cadmium-, Nickel-, Magnesium- und Zinksalze, welche die Gerinnung der Eiweißstoffe stören und dadurch die Menge des durch Hitze, unabhängig von den autolytischen Erscheinungen, nicht gerinnbaren Stickstoffs, herabsetzen, sowie der sich als inaktiv erwiesenen Palladiumsalze — die Salze der oben aufgezählten Metalle, analog den entsprechenden Hydrosolen, in kleinen Dosen eine die Autolyse beschleunigende Wirkung ausüben.

Aus verschiedenen Erwägungen heraus habe ich es für nicht uninteressant gehalten, zur Ergänzung jener Untersuchungen den eventuellen Einfluß der Quecksilbersalze auf die Autolyse zu studieren, um dabei auch gleichzeitig zwischen demselben und dem — von Randacio[2]), M. Ascoli und Izar[3]) untersuchten — Einflusse des Quecksilberhydrosols auf die Autolyse

[1]) M. Ascoli, Biochimica e Terapia Sperimentale, 1, H. 9, Mailand 1909.

[2]) Randacio, Il Policlinico, 1908.

[3]) M. Ascoli und Izar, diese Zeitschr. 17, 361, 1909.

und den von Izar[1]) beim Studium der Stoffwechselwirkung des Quecksilbers und seiner Salze erzielten Resultaten einen Vergleich anzustellen.

Das von mir angewandte Verfahren ist das gleiche wie das bei den bereits erwähnten Untersuchungen unseres Instituts befolgte (Autolyse von 30 g Rinderleberbrei usw.). Ich habe meine Untersuchungen auf nachstehende Salze beschränkt: Quecksilberchlorid, essigsaures, salpetersaures Quecksilber und Quecksilbercyanid. Selbstverständlich habe ich für das Quecksilbernitrat die Vorsicht gebraucht, Kontrolluntersuchungen anzustellen (siehe Tabelle IV), um festzustellen, inwieweit die der Lösung hinzugesetzte Salpetersäuremenge die autolytischen Erscheinungen beeinflußt.

Ebenso habe ich mich versichern wollen, daß die verwendeten Salze außer dem autolytischen Prozeß in keiner Weise die Menge des nicht gerinnbaren Stickstoffs beeinflussen; zu diesem Behufe habe ich, wie aus Tabelle III zu ersehen ist, an der Autolyse nicht überlassenen Leberbreiaufschwemmungen Versuche angestellt.

Ich gebe nun einen Teil meiner (zahlreicheren) Versuchsprotokolle wieder.

Tabelle I.

Versuchsdauer in Stunden	30 g Rindsleberbrei + destilliertes H_2O ccm	$^n/_{5000}$ zugesetzte $HgCl_2$-Lösung ccm	Hg-Gehalt mg	Gesamt-N g
72	300	—	—	0,159
72	290	10	0,4	0,157
72	275	25	1	0,166
72	250	50	2	0,170
72	225	75	3	0,164
72	200	100	4	0,168
72	175	125	5	0,170
72	150	150	6	0,219
72	125	175	7	0,224
72	100	200	8	0,210
72	75	225	9	0,181
72	50	250	10	0,184

Aus meinen Versuchen läßt sich also der Schluß ziehen, daß unter bestimmten Bedingungen die Quecksilbersalze auf die Autolyse eine beschleunigende Wirkung ausüben.

[1]) Izar, diese Zeitschr, 22, 371, 1909.

Tabelle II.

Versuchsdauer in Stunden	30 g Rindsleberbrei + destill. H_2O ccm	$^n/_{1000}$ zugesetzte Salzlösung ccm	Hg-Gehalt mg	Gesamt-N g
0	250	—	—	0,084
72	250	—	—	0,242
72	247,5	2,5 $HgCl_2$	0,5	0,308
72	240	10 „	2	0,269
72	225	25 „	5	0,321
72	215	35 „	7	0,268
72	200	50 „	10	0,227
72	175	75 „	15	—
72	125	125 „	25	0,206
72	—	250 „	50	0,299
72	247,5	2,5 $(CH_2CO_2)_2Hg$	0,5	0,245
72	240	10 „	2	0,259
72	225	25 „	5	0,264
72	215	35 „	7	0,322
72	200	50 „	10	0,217
72	175	75 „	15	0,233
72	125	125 „	25	0,168
72	—	250 „	50	0,244

Die das Beschleunigungsoptimum der Autolyse darstellende Dosis wechselt nicht nur je nach den einzelnen Salzen, sondern auch bei jedem einzelnen Versuch je nach der Beschaffenheit der verwendeten Leber.

So beträgt im ersten Versuch (Tabelle I) für Sublimat die Optimaldose (für je 30 g Leberbrei) 7 mg, im zweiten (Tabelle II) 5 mg, im dritten (Tabelle III) 2 mg. Für das Acetat ist die günstigste Dose 7 mg im ersten Versuch (Tabelle II), 1 mg im zweiten (Tabelle III); für das Nitrat und das Cyanid 2 mg (Tabelle IV). Quecksilbercyanid und Nitrat üben — in stärkeren Dosen, zwischen 5 und 20 mg — eine schwach hemmende Wirkung aus. Sublimat scheint in einer Dosis von 20 mg nicht immer die Autolyse zu behindern; wird die Dosis gesteigert, so wird mitunter — wie für das essigsaure Salz (Tabelle II) — eine neue Beschleunigung beobachtet.

Überhaupt erzielt man bei Erhöhung der zugesetzten Mengen ungleichmäßige Variationen in der Quantität des nicht gerinnbaren Stickstoffs.

Ähnliche Erfahrungen, wie die aus meinen Versuchen sich ergebenden, sind auch von Izar[1]) und Preti[2]) bezüglich der Salze anderer Metalle gemacht worden.

Die Wirkung der Quecksilbersalze ist nicht verschieden von jener des Quecksilberhydrosols. Nur scheint die die

[1]) Izar, G., diese Zeitschr. 20, 249, 1909.
[2]) Preti, L., Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 317.

Tabelle III.

Versuchsdauer in Stunden	30 g Rindsleberbrei + destill. H_2O ccm	$^n/_{1000}$ zugesetzte Salzlösung ccm	Hg-Gehalt mg	Gesamt-N g
0	250	—	—	0,101
0	249,5	0,5 $HgCl_2$	0,1	0,100
0	245	5 „	1	0,099
0	240	10 „	2	0,099
0	225	25 „	5	0,096
0	200	50 „	10	0,099
0	150	100 „	20	0,103
72	250	—	—	0,160
72	250	0,1 $HgCl_2$	0,02	0,181
72	249,5	0,5 „	0,1	0,189
72	245	5 „	1	0,236
72	240	10 „	2	0,252
72	225	25 „	5	0,236
72	200	50 „	10	0,171
72	150	100 „	20	0,167
0	249,5	0,5 $(CH_3CO_2)_2Hg$	0,1	0,096
0	245	5 „	1	0,096
0	240	10 „	2	0,104
0	225	25 „	5	0,099
0	200	50 „	10	0,099
0	150	100 „	20	0,097
72	250	0,1 „	0,02	0,162
72	249,5	0,5 „	0,1	0,160
72	245	5 „	1	0,249
72	240	10 „	2	0,206
72	225	25 „	5	0,164
72	200	50 „	10	0,205
72	150	100 „	20	0,163

Tabelle IV.

Versuchsdauer in Stunden	30 g Rindsleberbrei + destilliertes H_2O + HNO_3 1% ccm	$^n/_{1000}$ zugesetzte Salzlösung ccm	Hg-Gehalt mg	Gesamt-N g
0	250	—	—	0,093
0	240	10 $Hg(NO_3)_2$	2	0,090
0	200	50 „	10	0,092
0	150	100 „	20	0,092
72	250	—	—	0,211
72	247,5	2,5 „	0,5	0,205
72	245	5 „	1	0,225
72	240	10 „	2	0,273
72	225	25 „	5	0,260
72	200	50 „	10	0,152
72	150	100 „	20	0,160

Autolyse beschleunigende Optimaldosis — ich sage scheint, denn zu einem streng durchgeführten Vergleich wären Versuche an dem nämlichen Leberbrei unerläßlich — für das Hydrosol eine höhere zu sein (15 mg für je 25 g Leberpulpa, nach Izar) als für die Salze und dem Hydrosol scheint in höheren Dosen eine ausgeprägt hemmende Wirkung zuzukommen.

Tabelle V.

Versuchsdauer in Stunden	30 g Rindsleberbrei + destilliertes H_2O ccm	$^n/_{1000}$ zugesetzte Salzlösung ccm	Hg-Gehalt mg	Gesamt-N g
0	250	—	—	0,093
0	240	10 $Hg(CN)_2$	2	0,091
0	200	50 „	10	0,092
0	150	100 „	20	0,090
72	250	—	—	0,146
72	247,5	2,5 „	0,5	0,149
72	245	5 „	1	0,164
72	240	10 „	2	0,227
72	225	25 „	5	0,141
72	200	50 „	10	0,131
72	150	100 „	20	0,124

Die von mir mitgeteilten Wahrnehmungen finden in früheren, den Einfluß des Quecksilbers auf anderweitige biologische Vorgänge beweisenden Untersuchnngen, ihre Bestätigung. So hat z. B. Schultz[1]) berichten können, daß ein Zusatz von minimalen Mengen von $HgCl_2$ die alkoholische Gärung steigert; Bredig[2]) und später Henri und Stodel[3]) haben den Nachweis geliefert, daß Sublimatspuren die Zersetzung des H_2O_2 durch die Wirkung des Goldhydrosols fördern, während stärkere Dosen dieselbe behindern. Eine ähnliche zweifache Einwirkung von $HgCl_2$ auf das Oxydationsvermögen der Mangansalze ist von Trillat[4]) und eine solche auf die Laccase und Tyrosinase auf das proteolytische Vermögen des Trypsins usw. von Stassano[5]) angeführt worden. Dagegen hat Hata[6]) eine rein hemmende Wirkung auf Pepsin, Trypsin, Lab, Katalase und auf das proteolytische Ferment der Leber angetroffen.

Aus den Versuchen von Izar[7]) über die Stoffwechselwirkung des Quecksilbers geht hervor, daß der Stickstoffumsatz durch kleine Mengen von Hydrosol bzw. der Quecksilbersalze gesteigert wird; es scheint demnach die Stoffwechselwirkung des Quecksilbers mit seiner Wirkung auf die Autolyse in engem Zusammenhang zu stehen.

[1]) Schultz, Pflügers Archiv 1888.
[2]) Bredig, Compt. rend. de l'Acad. des Sciences 1901.
[3]) Henry und Stodel, zit. nach Stassano.
[4]) Trillat, zit. nach Stassano.
[5]) Stassano, Compt. rend, de la Soc. de Biol. 1905.
[6]) Hata, diese Zeitschr. 17, 159, 1909.
[7]) Izar, loc. cit.

Kritische Bemerkungen zu der Arbeit „Vorstudien über Gicht" von Bechold und Ziegler (diese Zeitschr. 20, 189).

Von

Gudzent.

(Eingegangen am 27. November 1909.)

Bechold und Ziegler haben die Löslichkeitsverhältnisse der Harnsäure und des Natriumurats in Serum einer Prüfung unterzogen und daran die Fragen angeschlossen: Welche Stoffe begünstigen, welche hemmen das Ausfallen von Harnsäure bzw. Uraten aus Serum?

Sie geben nun an, „daß bei 37° die Löslichkeit von Harnsäure in aktiviertem Rinderserum (Überfüllung) 1:1100, (Füllung) 1:1925, für Mononatriumurat 1:40000 beträgt. Ferner sollen OH-Ionen und H-Ionen das Ausfallen von Harnsäure und Natriumurat aus Serum hemmen, desgleichen Kalium, Lithium und Magnesium, während Natrium stets und Ammonium in den meisten Fällen fördernd einwirken.

Schließlich soll die Radiumemanation das Ausfallen von Harnsäure aus Serum hemmen, bei Mononatriumurat ohne Einfluß sein."

Die Untersuchung baut sich auf Voraussetzungen auf, die mit physikalisch-chemischen Gesetzmäßigkeiten im Widerspruch stehen.

Die eigenartige Zusammensetzung des Serums bedingt dessen allbekannte, fast neutrale Reaktion, die trotz einer Zunahme von Säuren und Basen bis zu recht weiten Grenzen aufrecht erhalten wird. (Siehe hierüber Höber, Physik. Chemie der Zelle, 2. Aufl., 1906, S. 156.) Diese Tatsache allein läßt a priori erwarten, daß die Harnsäure als solche im Serum nicht existenzfähig sein kann. Es läßt sich nun in der Tat mit Hilfe des Gesetzes über das chemische Gleichgewicht in Salzlösungen (siehe Nernst, Theoretische Chemie, 5. Aufl., S. 500ff.) rein theoretisch-mathematisch feststellen, daß die Harnsäure unter Verdrängung der schwächeren Kohlensäure mit der Natriumbase (die anderen Basen kommen praktisch nicht in Betracht) sich in Mononatriumurat umwandelt. (Diese Tatsachen sind von mir bereits am 5. Juli d. J. in einem Vortrag im Verein für innere Medizin zu Berlin genauer auseinandergesetzt worden; die Arbeit selbst erscheint im nächsten Heft der Zeitschr. f. physiol. Chem.)

Durch Löslichkeits- und Dialyseversuche mit Serum und Blut hat die Richtigkeit dieser Erkenntnis experimentell bewiesen werden können.

Die von Bechold und Ziegler angegebenen Löslichkeitswerte sind deshalb, wie die aller früheren Autoren, ohne Wert; sie bedeuten nichts anderes als die jeweilige Konzentration des gebildeten Mononatriumurats, das bekanntlich bei schneller Entstehung übersättigte Lösungen bildet, um sich dann allmählich, manchmal schneller, manchmal langsamer, wie viele andere Salze mit Übersättigungserscheinungen, in sein Lösungsgleichgewicht (für die stabile Form beträgt die Löslichkeit nur rund 8 mg pro 100 ccm Serum) einzustellen. Je nach der Zeit, zu welcher man ein Serum, in das man reine Harnsäure in größerer als dem Lösungsgleichgewicht des sich bildenden Mononatriumurats entsprechenden Menge gegeben hat, auf seinen Harnsäuregehalt untersucht, wird man höhere und geringere Werte finden, was sich auch experimentell feststellen ließ.

Die von Bechold und Ziegler angegebene Analyse beweist nichts:

1. weil sie unvollständig ist (keine Elementaranalyse),

2. weil die CO_2-Spannung nicht berücksichtigt ist, unter der sich der Bodenkörper bildete. (Genügende Menge CO_2 vermag Urat in Harnsäure wieder umzuwandeln, cfr. His und Paul, Pharmaz. Zeitschr. 1900),

3. weil außerdem bezweifelt wird, daß es gelingt, den Bodensatz von den Serum- und Farbstoffbestandteilen mit „wenig Wasser" genügend zu befreien.

Da nun also die Harnsäure als solche im Serum gar nicht existieren kann, müssen auch die Folgerungen, die Bechold und Ziegler an ihre Beobachtungen in bezug auf das Ausfallen der Harnsäure geknüpft haben, fallen gelassen werden.

Unter diesem Gesichtspunkte verlieren auch ihre Versuche mit Radiumemanation, deren Anwesenheit auf das Ausfallen der Harnsäure einen hemmenden Einfluß haben soll, an Beweiskraft. Was aus einer Serum-Harnsäurelösung ausfällt, ist ja gar nicht Harnsäure, sondern Mononatriumurat, das in diesen Versuchen sich in übersättigter Lösung befindet. Nun kann man beobachten, daß auch ohne Anwesenheit von Radiumemanation das Urat einmal schneller, ein andermal langsamer ausfällt.

In gleicher Weise wie bei der Harnsäure sind auch bei Prüfung des Verhaltens des Natriumurats im Serum die physikalisch-chemischen Gesetzmäßigkeiten zu beachten. (Siehe auch His und Paul, Zeitschr. f. physiol. Chem. 31 und Höber, Physik. Chemie, 2. Aufl., 1907, S. 107 ff.) Bechold und Ziegler haben das nicht getan und mußten also auch hier zu unrichtigen Resultaten kommen. Die Löslichkeit von Mononatriumurat im Serum beträgt, nach diesen Grundsätzen ermittelt:

für das Lactamurat 18,4 mg pro 100 ccm Serum

„ „ Lactimurat 8,3 „ „ „ „ „

Ein merklicher Einfluß der Salze des Serums auf das Mononatriumurat geht nur von jenen aus, die ein Ion, nämlich das Natrium, mit ihm gemeinsam haben; und zwar wirken diese löslichkeitserniedrigend. Das läßt sich nicht nur theoretisch voraussehen, sondern der Grad der Einwirkung ist sogar nach bestimmten Gesetzen (Nernst, Theoretische

Chemie) rechnerisch festzustellen, wie das in der in der nächsten Nummer der Zeitschr. f. physiol. Chem. erscheinenden Arbeit genau ausgeführt ist. Unsere Experimente ergeben die volle Übereinstimmung mit der Rechnung.

Auch die weiteren Versuche von Bechold und Ziegler bezüglich des Einflusses von OH-, H-, Li- und Mg-Ionen haben keine Beweiskraft, weil nicht die sekundären Umsetzungen berücksichtigt sind, die bei Zusatz solcher Ionen zu einer Harnsäurelösung auftreten müssen. (Siehe auch Höber, Physik. Chemie, 1906, S. 107 und His und Paul, Pharmaz. Zeitschr. 1900.)

Damit müssen auch die Betrachtungen hinsichtlich der Pathologie und Therapie der Gicht, weil auf irrtümlichen Voraussetzungen beruhend, abgelehnt werden.

Über die Adsorption durch Tone. II.

Von

P. Rohland.

(Aus dem Institut für Elektrochemie und technische Chemie der Techn. Hochschule zu Stuttgart.)

(*Eingegangen am 29. November 1909.*)

Meiner in dieser Zeitschrift publizierten Abhandlung über die Adsorption durch Tone[1]) möchte ich noch eine ergänzende Mitteilung anfügen.

Zu solchen Versuchen eignen sich am besten dunkelgefärbte, stark plastische Tone; diese enthalten im lufttrockenen Zustande gewissermaßen im latenten Stadium Kolloidstoffe; durch Berührung mit Wasser treten sie in Aktion. Diese Kolloidstoffe sind die Hydroxyde des Siliciums, Aluminiums, Eisens, Titans und organische Substanzen.

Infolgedessen besitzen die Tone in dem Maße, als sie diese Kolloidstoffe zu bilden vermögen, Wasserimbibitionskraft, die mit einer Kontraktion bei der Wasseraufnahme und einem Quellungsmaximum verbunden ist, Schwindungsfähigkeit beim Trocknen an der Luft und im Feuer, Bindungsvermögen für kleine amorphe und krystalloide Stoffe, die sog. Magerungsmittel; ihre Adsorptionsfähigkeit erstreckt sich nach meinen Untersuchungen auf folgende Stoffe und Stoffbestandteile:[2])

1. auf kolloide Substanzen,

2. auf kompliziert zusammengesetzte, anorganische und organische Farbstoffe,

3. auf die $CO_3'' =$, $HCO_3' =$, $B_4O_7'' =$ Ionen, die vollständig, auf die $PO_4'' =$ Ionen, die teilweise adsorbiert werden.

[1]) 17, 220, 1909.

[2]) Zeitschr. f. Elektrochem. 11, 28, 1905; Zeitschr. f. anorgan. Chem. 56, 46, 1907; Zeitschr. f. anorgan. Chem. 60, 366, 1908.

4. auf starke Gerüche, die trotzdem mit der Wage analytisch nicht faßbar sind.[1])

Aber damit ist die Adsorptionsfähigkeit und die entgegengesetzte Eigenschaft immer noch nicht erschöpft.

Die zu den folgenden Versuchen angewandten Tone hatten der Analyse nach folgende Zusammensetzung:

Ton: B (Weigersdorf): die Analyse desselben ist schon mitgeteilt worden.[2])

Ton: D (Fraustadt):

	I.
H_2O	2,92%
org. Subst.	5,34 „
SiO_2	61,30 „
TiO_2	1,01 „
SO_3	1,79 „
CO_2	0,74 „
P_2O_5	0,06 „
Al_2O_3	17,03 „
Fe_2O_3	4,99 „
Mn_2O_3	0,14 „
CaO	1,22 „
MgO	1,53 „
K_2O	1,15 „
Na_2O	0,71 „

	II.
H_2O	2,77%
org. Subst.	5,88 „
SiO_2	57,45 „
TiO_2	1,05 „
SO_3	1,53 „
CO_2	0,44 „
P_2O_5	—
Al_2O_3	18,41 „
Fe_2O_3	8,21 „
Mn_2O_3	0,08 „
CaO	1,46 „
MgO	1,52 „
K_2O	0,74 „
Na_2O	0,40 „

[1]) Vgl. P. Rohland, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 325, 1909. Eine Bemerkung über den Tongeruch.

[2]) Diese Zeitschr., l. c.

Digeriert man diese Tone im lufttrocknen, fein gepulverten Zustande mit einem Gemisch von Wasser und gesättigten Kohlenwasserstoffen der aromatischen Reihe, so wird von den Tonen, bzw. von den nunmehr gebildeten Kolloidstoffen so viel Wasser aufgenommen, bis ihr Quellungsmaximum erreicht ist.

In diesem Zustande aber sind die Tone für gesättigte Kohlenwasserstoffe undurchlässig.

Außerdem sind sie für organische Flüssigkeiten, wie Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Petroleumäther, nicht permeabel. Auch Petroleum wird an der Diffusion verhindert.

Die Ursachen dieser Vorgänge sind auch die schon angegebenen; nach Bildung der kolloidalen Lösungen erfolgt ihre Koagulation durch Elektrolytgegenwert beim Quellungsmaximum.

Dieses zellartige, mit Wasser imbibierte Gehäuse verhindert die gesättigten Kohlenwasserstoffe an der Diffusion.

Eine besondere Eigenschaft weist der Ton D auf; er vermag ungesättigte Kohlenwasserstoffe von der Konstitution C_nH_{2n}; C_nH_{2n-2} aufzunehmen und festzuhalten. Ob diese Adsorption nur chemisch-physikalischen oder rein chemischen Ursprungs ist, möge dahingestellt bleiben.

Man kann also auf diesem Wege ungesättigte Kohlenwasserstoffe von gesättigten trennen; z. B. im amerikanischen Petroleum, das größtenteils gesättigte Kohlenwasserstoffe, und im europäischen Petroleum, das sehr viel ungesättigte Kohlenwasserstoffe enthält.

Die aus solchen Tonen abgespaltenen Hydroxyde des Si, Al, Fe, Ti haben die Fähigkeit, sauerstoffhaltige Stoffe, Wasser, Alkohole, Aceton usw. aufzunehmen, während sie sauerstofffreie, wie Benzol, Toluol, Schwefelkohlenstoff, mit Ausnahme der ungesättigten Kohlenwasserstoffe, an der Diffusion verhindern.

Über den Einfluß einiger Alkohole, Oxy- und Aminosäuren der aliphatischen Reihe auf die Zucker- und Stickstoffausscheidung beim Phlorizindiabetes des Hundes.

I. Mitteilung.

Von

Paul Höckendorf.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 15. November 1909.)

In den hier mitgeteilten Untersuchungen wurden kleinere Hunde, von etwa 6000 bis 11000 g Körpergewicht, durch täglich einmalige subcutane Einspritzung von 2 g Phlorizin in 1%iger Sodalösung im Hungerzustande 7 oder 8 Tage lang im Diabetes erhalten, und es wurden während dieser Zeit, gewöhnlich bald nach der 4. Einspritzung, also zu Beginn des 4. Tages des Diabetes, die betreffenden Substanzen, und zwar fast immer per Schlundsonde, in den Magen gegossen. Wie aus den Tabellen ersichtlich ist, war die Zucker- und Stickstoffausscheidung bis zu dem Tage der Eingießung der zu erprobenden Substanz fast immer eine genügend gleichmäßige geworden, so daß etwaige durch letztere hervorgerufene Veränderungen gut zu erkennen waren. Ich konnte so von der beschwerlichen Applikationsmethode des Phlorizins mit 8stündigen Zwischenräumen während je 24 Stunden, wie sie mehrfach als unerläßlich für die Gewinnung gleichmäßiger Resultate hingestellt wird, Abstand nehmen. Die Zuckerbestimmung wurde in jedem Falle vermittels Titration mit Knappscher Lösung vorgenommen. In einigen Fällen wurde daneben die Polarisation und die Vergärung zur Kontrolle hinzugezogen.

Der zu untersuchende Urin wurde regelmäßig durch Katheterisation gewonnen[1]), auf die dann eine Ausspülung der

[1]) Der spontan gelassene und in einem Sammelgefäße aufgefangene wurde dem Katheterurin hinzugefügt.

Blase mit abgekochtem, destilliertem Wasser folgte, nur in den ersten Versuchen wurde letztere unterlassen.

Hautabszesse nach den Phlorizineinspritzungen entstanden nur im Anfang der Versuche, später wurden sie durch peinliche Desinfektion der Haut und der Instrumente immer vermieden.

Die Tabellen sind genau chronologisch aufgestellt. Auf gleicher Zeile steht also der an dem betr. Tage vorgenommene Eingriff und das an demselben Tage gewonnene Untersuchungsresultat, das also das Ergebnis des Eingriffes vom Tage vorher ist.

Ein Beispiel des Verlaufes eines auf meine Weise hervorgerufenen und unterhaltenen einfachen Phlorizindiabetes, ohne Zuführung einer weiteren Substanz, ist das folgende:

Tabelle I.

Hündin A: Gewicht 6300 g, kurzhaariger Foxterrier, nicht fett, wurde vorher mit gemischtem Futter ernährt. Erhielt seit ungefähr 24 Stunden keine Nahrung mehr. Der Hunger wird während des Versuches fortgesetzt. Erhält 2 g Phlorizin in 1% iger Sodalösung (zirka 15 ccm) subcutan (24. II. 08). Das Tier wurde zum ersten Male mit Phlorizin behandelt.

1908		Urin, aufgefüllt auf	Zucker	N	D:N	Gewicht g
24. II.	2 g Phorizin subcutan	—	—	—	—	6300
25. „	2 g Phlorizin	800 ccm	17,86	4,42	4,04	
26. „	do.	800 „	23,53	6,41	3,67	
27. „	do.	1100 „	23,7	6,74	3,52	
28. „	do.	1200 „	21,0	6,0	3,47	5480
29. „	—	1200 „	16,3	5,25	3,1	

Wir sehen hier, was in den späteren Versuchen fast regelmäßig wiederkehrt, daß am 1. Tage des Phorizindiabetes weniger Stickstoff ausgeschieden wird als an den folgenden, obgleich die Zuckerproduktion keine niedrige ist; ja sie kann, wie wir später sehen werden, höher sein als an den folgenden Tagen. Dies beruht offenbar darauf, daß der Körper des Tieres noch viel Glykogen enthält. Letzteres wird zuerst herangezogen. Der Quotient D:N ist deshalb größer als an den folgenden Tagen. Allmählich wird mehr Eiweiß zur Zuckerproduktion verwandt. Vom 4. Untersuchungstage an sinkt die Verwendung

des Eiweißes, aber auch die Zuckerproduktion im ganzen. Hier hat offenbar die Glykogenverwendung zur Zuckerbildung fast ganz aufgehört. Da die Zuckerbildung aus Eiweiß und event. aus Fett schwerer vonstatten geht als die aus Glykogen, so sinkt die Zuckerproduktion im ganzen. Würde ich den Phlorizindiabetes noch weiter unterhalten haben, so würde wahrscheinlich allmählich die N-Ausscheidung noch weiter gesunken sein, indem mehr Fett zur Zuckerproduktion verwandt würde. Die Zuckerproduktion braucht dabei, wie spätere Tabellen beweisen werden, zunächst nicht oder doch nicht wesentlich zu sinken. Es richtet sich das wohl nach der disponiblen Fettmenge. Gewöhnlich steigt aber am Tage der 4. Zuckerbestimmung die Zuckermenge nicht mehr an und sinkt am Tage der 5. Zuckerbestimmung.

Es handelte sich in dem angeführten Beispiel um einen mäßig glykogenreichen Hund. Das folgende Beispiel betrifft einen Hund, der sich in der Unterernährung befindet. Auch dieses Beispiel kann man als das eines normalen Phlorizindiabetes im Hunger betrachten, da die am vorletzten Tage verabfolgte subcutane Einspritzung von Erythrit wohl ohne Einfluß auf den Stoffwechsel gewesen ist.

Tabelle II.

Hündin B. Am 12. X. 08 Gewicht 7620 g. Hat am 11. V. 08 8780 g gewogen, ist also in der Unterernährung, wohl infolge von Räude. Das Tier ist seit mehr als 24 Stunden ohne Nahrung und hungert während des folgenden Versuches. Es erhält am 12. X. 08 2 g Phlorizin subcutan.

1908		Urin	Zucker	N	D: N	Gewicht g
12. IX.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	7620
13. X.	2 g Phlorizin subcutan	ca. 200 ccm auf 1000 ccm aufgefüllt	14,7	5,35	2,75	7440
14. „	2 g Phlorizin subcutan	ca. 250 ccm auf 1000 ccm	18,75	6,89	2,72	7240
15. „	2 g Phlorizin subcutan	250 bis 300 ccm auf 1000 ccm	20,83	6,65	3,13	6845
16. „	2 g Phlorizin subcutan, 20 g Erythrit subcutan	auf 1500 ccm	20,83	6,51	3,2	6550
17. „	—	auf 1600 ccm	19,35	5,88	3,29	6430

Dieser Hund hat wenig Glykogen in seinem Körper aufgespeichert, er verwendet daher von vornherein mehr Eiweiß, das er anscheinend ziemlich reichlich zur Verfügung hat, zur Zuckerproduktion. Die stärkere Fettverwendung scheint schon am Tage der dritten Zuckerbestimmung (15. X.) einzusetzen, denn daß das Tier jetzt erst anfangen sollte, sein Glykogen reichlicher zu verwenden, ist wohl ganz auszuschließen.

Es schien mir nun von Interesse zu sein, zu erforschen, welche Veränderungen in diesen unter den gewählten Bedingungen so ziemlich gleichmäßigen Verhältnissen beim Phlorizindiabetes des Hundes eintreten, wenn ich dabei Substanzen zuführte, von denen ich a priori aus später zu erörternden Gründen einen Einfluß erwartete, nämlich Alkohole und Säuren der aliphatischen Reihe.

Ich teile zuerst meine Untersuchungen bei Anwendung von Methylalkohol mit.

Methylalkohol.

Ich lasse zunächst 2 Tabellen folgen:

Tabelle III.

Hündin B. Am 12. VII. 09 Gewicht 9010 g. Das Tier hat während des 11. VII. gehungert, vorher gemischte Kost erhalten. Im Urin ist kein Zucker, aber anscheinend etwas Eiweiß. Der Hund erhält am 12. VII. 2 g Phorizin subcutan. Während des ganzen Versuches erhält er keine Nahrung, nur Wasser nach Belieben.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	Gewicht g
12. VII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	9010
13. „	do.	ca. 265 ccm auf 1300	13,93	2,59	5,38	8740
14. „	do.	311 auf 1300	11,96	3,64	3.286	8560
15. „	2 g Phlorizin subcutan, 12 ccm Methylalkohol per Schlundsonde	386 Urin + Erbrochenes auf 1500	14,06	4,25	3,31	8370
16. „	2 g Phlorizin subcutan	441 auf 1500	15,84	4,62	3,43	8150
17. „	2 g Phlorizin subcutan, 12 ccm Methylalkohol per Schlundsonde	406 Urin + Erbrochenes auf 1500	16,07	4,72	3,40	7940
18. „	—	731 Urin + Erbrochenes auf 2000	20,82	5,32	3,91	7690

Tabelle IV.

Hündin D. Am 19. VII. 09 Gewicht 9890 g. Am 18. VII. Hunger, vorher gemischte Kost. Im Urin kein Zucker, vielleicht etwas Eiweiß; Am 19. VII. 2 g Phlorizin subcutan. Während des Versuches hungert das Tier, trinkt aber Wasser nach Belieben.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	Gewicht g
19. VII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	9890
20. „	do.	181 auf 1300	15,47	1,64	9,43	9730
21. „	do.	161 auf 1300	12,66	2,77	4,56	9570
22. „	2 g Phlorizin subcutan, 12 ccm Methylalkohol per Schlundsonde	256 Urin + Erbrochenes auf 1300	12,5	4,00	3,12	9405
23. „	2 g Phlorizin subcutan	719 auf 1400	15,22	4,36	3,49	9110
24. „	—	681 auf 1550	13,52	4,61	2,93	8890

Was in diesen beiden Tabellen zunächst auffällt, ist das im ganzen niedrigere Niveau der Zuckerausscheidung und der Stickstoffausscheidung. Obgleich die beiden letzteren Hunde 2000 bis 3000 g schwerer waren als die in den Normalversuchen, findet dieses Verhältnis statt bei immer der gleichen Phlorizinmenge. Mit dem Ernährungszustande hängt diese Erscheinung, der wir öfter begegnen werden, nicht zusammen; es scheint, als ob mit der häufigeren Verwendung der gleichen Tiere zu den Versuchen allmählich eine größere Toleranz für Phlorizin eintritt, so daß die gleichen Tiere später auf die gleiche Dosis weniger Zucker und Stickstoff ausscheiden, obgleich die Tatsache dadurch allein auch nicht immer zu erklären ist. Es hat sich aber in allen meinen 34 Versuchen mit einer einzigen Ausnahme, deren wahrscheinliche Erklärung unten gegeben werden wird, gezeigt, daß das sich am 2. und 3. Untersuchungstage deutlich zeigende Niveau für die ferneren Untersuchungstage maßgebend bleibt, so daß wir trotzdem aus den Ausschlägen nach oben oder nach unten besonders unter Berücksichtigung des Quotienten D:N Schlüsse ziehen können.

Unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse fallen zunächst die verhältnismäßig hohen Quotienten D:N nach der Einwirkung des Methylalkohols auf. In Tabelle III 3,43 und 3,91 und in Tabelle IV 3,49.

Tabelle V.

Hündin B. Am 14. VI. 09 Gewicht 8660 g. Hat während des 13. VI. gehungert, ist vorher mit gemischter Kost ernährt. Im Harn kein Zucker und kein Eiweiß. Das Tier erhält am 14. VI. 2 g Phlorizin subcutan.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
14. VI.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 8660 g
15. „	do.	334 auf 1000	16,00	2,17	7,37	Harn alkalisch Gew. 8380 g
16. „	do.	276 Urin + Erbrochenes auf 1200	12,86	3,276	3,92	Harn leicht alkalisch Gew. 8200 g
17. „	2 g Phlorizin subcutan, $^n/_1$-Valeriansäure[1]) als Natriumsalz in Wasser gelöst per Schlundsonde	512 Urin + Erbrochenes auf 1400	12,96	3,48	3,72	Harn sauer Gew. 7890 g
18. „	2 g Phlorizin subcutan	720 Urin + Erbrochenes auf 1700	11,38	3,15	3,61	Harn alkalisch Gew. 7640 g
19. „	—	307 Urin + Erbrochenes auf 1000	13,39	3,71	3,61	Harn sauer Gew. 7400 g

Man darf diese Quotienten natürlich nicht mit den entsprechenden aus anderen Tabellen vergleichen, sondern nur mit den vorhergehenden und den folgenden der gleichen Tabelle. Besonders in Tabelle IV ist der Ausschlag sehr deutlich als ein von der Norm abweichender zu erkennen. Die Erhöhung der Quotienten ist bewirkt durch eine unverhältnismäßige, wenn auch nicht sehr bedeutende Steigerung der Zuckerproduktion bei gleichzeitigem leichtem Ansteigen der Stickstoffausscheidung. Die Zuckerproduktion steigt aber wesentlich mehr an als die Stickstoffausscheidung, daher die Erhöhung des Quotienten. In

[1]) Es wurden im ganzen ca. 12 g Valeriansäure, die durch Natronlauge und Na_2CO_3 ganz leicht alkalisch gemacht wurden, + 250 ccm Wasser in 3 Portionen mit einstündigen Pausen eingegossen. Es trat erst nach mehr als einer halben Stunde nach der letzten Eingießung reichliches Erbrechen ein, so daß anzunehmen ist, daß wenigstens ein größerer Teil der Säure resorbiert wurde.

beiden Tabellen erhöht sich die N-Ausscheidung an dem folgenden Tage noch etwas, in Tabelle III auch die Zuckerproduktion, doch sinken die Quotienten D:N in beiden Tabellen wieder herab. In Tabelle III steigt dann bei nochmaliger Fütterung von Methylalkohol Zucker und Stickstoff wieder in dem Verhältnisse, daß der Quotient D:N auch steigt.

Meine ferneren 3 Versuche mit Anwendung von Methylalkohol sind kompliziert durch gleichzeitige Fütterung von normaler Valeriansäure. Ich muß daher zunächst den Versuch hier einschieben, in dem ich normale Valeriansäure allein verfütterte. (Vgl. Tabelle V).

Aus der Tabelle ist ein wesentlicher Einfluß der normalen Valeriansäure auf die Zucker- und N-Ausscheidung nicht zu erkennen; es könnte höchstens für beide Substanzen auf eine leichte Hemmung zu schließen sein.

Ich lasse nun die 3 Versuche folgen, in denen zugleich mit dem Methylalkohol normale Valeriansäure eingegossen wurde.

Tabelle VI.

Hündin D. Am 5. VII. 09 Gewicht 10110 g. Das Tier hat während des 4. VII. gehungert, wurde vorher mit gemischter Kost ernährt. Urin ohne Zucker, doch besteht etwas Blasenkatarrh. Am 5. VII. wurden 2 g Phlorizin injiziert.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
5. VII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 10110 g
6. „	do.	257 auf 1300	16,25	4,37	3,72	Urin alkalisch Gew. 9860 g
7. „	do.	311 auf 1300	14,34	5,00	2,86	Urin alkalisch Gew. 9640 g
8. „	2 g Phlorizin subcutan, 10 g $^n/_1$-Valeriansäure + 12 ccm Methylalkohol	476 auf 1500	14,90	4,72	3,15	Urin neutral, fast sauer Gew. 9380 g
9. „	2 g Phlorizin subcutan	800 Urin + Erbrochenes auf 2000	17,24	3,85	4,48	Urin alkalisch Gew. 9150 g
10. „	—	740 auf 1700	15,18	4,998	3,04	Urin sauer Gew. 9030 g

Tabelle VII.

Hündin E. Am 26. VI. 09 Gewicht 11280 g. Hat am 25. VII. gehungert, vorher gemischte Kost erhalten. Harn ohne Zucker und Eiweiß. Erhält am 26. VII. 2 g Phlorizin.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
26. VII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 11280 g
27. „	do.	391 auf 1300	17,73	3,82	4,64	Urin sauer Gew. 10940 g
28. „	do.	266 auf 1500	14,24	4,30	3,31	Urin sauer Gew. 10730 g
29. „	2 g Phlorizin subcutan, 10 g $^{n}/_{1}$-Valeriansäure + 12 ccm Methylalkohol	616 auf 1500	15,62	4,57	3,42	Gew. 10500 g
30. „	2 g Phlorizin subcutan	825 Urin + Erbrochenes auf 2000	17,54	4,55	3,85	Urin sauer Gew. 10305 g
31. „	—	576 Urin + Erbrochenes auf 1500	14,70	5,2	2,83	Urin sauer Gew. 10100 g

Tabelle VIII.

Hündin B. Am 2. VIII. 09 Gewicht 9240 g. Das Tier hat am 1. VIII. gehungert, vorher gemischte Kost erhalten. Der Katheterurin ist alkalisch, der früher spontan entleerte sauer; er enthält weder Zucker, noch Eiweiß. Am 2. VIII. 09 2 g Phlorizin subcutan. Bald nach Einspritzung erbricht das Tier gallige Flüssigkeit.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
2. VIII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 9240 g
3. „	do.	356 auf 1300	14,55	1,77	8,22	Urin sauer Gew. 9000 g
4. „	do.	396 auf 1300	14,13	3,41	4,14	Urin sauer Gew. 8800 g
5. „	do. 10 g normale Valeriansäure + 12 ccm Methylalkohol	541 auf 1550	11,86	3,58	3,31	Urin sauer Gew. 8600 g
6. „	2 g Phlorizin subcutan	870 auf 2200	14,28	3,54	4,03	Urin alkalisch Gew. 8370 g
7. „	—	376 auf 1500	11,33	3,78	3,00	Urin sauer Gew. 8250 g

In diesen 3 Versuchen erkennen wir deutlich die zuckervermehrende Wirkung des Methylalkohols, finden in ihnen aber keine Erhöhung der N-Zahl; in der Tabelle VI sogar eine deutliche Verminderung derselben. Dieses Gleichbleiben der N-Zahl, resp. ihre Verminderung ist wahrscheinlich auf die Wirkung der normalen Valeriansäure zurückzuführen, die ja, wie wir aus Tabelle V schließen könnten, die N- und Zuckerausscheidung herabzusetzen scheint. Der Ausdruck dieser Verhältnisse muß dann natürlich auch in diesen 3 Versuchen eine Erhöhung des Quotienten D:N sein, die noch deutlicher in die Erscheinung tritt, als bei den Versuchen mit Methylalkohol allein.

Noch einen 6. Versuch habe ich mit Methylalkohol-Fütterung gemacht, der im wesentlichen zu den gleichen Resultaten führte, doch war hier noch eine neue Substanz daneben verfüttert worden, auch war das Tier etwa doppelt so schwer, wie die bisher verwandten Hunde, weshalb es zum Vergleiche mit diesen nicht ganz geeignet ist.

Eine Besprechung der Bedeutung dieser Resultate lasse ich später folgen und wende mich zunächst zu 2 Versuchen mit Alkoholen, die 2 C-Atome enthalten.

Äthylalkohol und Äthylenglykol.

Tabelle IX.

Hündin A. Wiegt am 27. VII. 08 5940 g, hat schon während des 26. VII. gehungert, vorher gemischte Kost erhalten. Der Katheterharn ist alkalisch infolge leichten Blasenkatarrhs, enthält aber keinen Zucker. Das Tier ist etwas räudig. Es erhält am 27. VII. 2 g Phlorizin subcutan.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
27. VII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 5940 g
28.						
29. „	do.	auf 1200	15,58	3,36	4,64	Harn alkalisch
30. „	do.	„ 1300	13,73	4,14	3,32	do.
„	do.	„ 1200	14,56	4,66	3,12	
	5,4 bis 10 ccm Alkohol absolut mit Wasser per Schlundsonde					
31. „	2 g Phlorizin subcutan	„ 1302	13,376	4,686	2,85	Harn schwach sauer
1. VIII	—	„ 1500	12,36	4,41	2,8	Harn sauer Gew. 4930 g

Dieser Versuch läßt wohl kaum eine Einwirkung der Alkoholfütterung auf die Ausscheidung von Zucker und N erkennen. Da nach der ersten Eingießung Erbrechen erfolgte, ist die genaue Angabe des resorbierten Aethylalkohols nicht möglich. Die zweite Portion (5,4 ccm) wurde aber nicht erbrochen.

Tabelle X.

Hündin C., ein kleiner Teckel von 6750 g. Gewicht, der anscheinend noch sehr jung ist. Das Tier hat am 12. VII. 08 gehungert und bekommt am 13. VII.: 2 g Phlorizin subcutan. Der Urin ist sauer. Das Tier ist etwas räudig.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
13. VII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 6750 g
14. „	do.	auf 1000	16,89	5,67	2,98	Harn sauer
15. „	do.	I auf 1500 II „ 300	I 18,03 II 2,69	I 6,14 II 1,12	2,85	Portion I mit Kot vermischt
			20,72	7,26		
16. „	do. 30 g Glykol mit Wasser per Schlundsonde	auf 1000	24,04	8,71	2,76	Harn sauer Gew. 5815 g
17. „	2 g Phlorizin subcutan	„ 2200	24,44	7,55	3,24	Harn sauer
18. „	—	„ 1000	2,94	0,38	7,74	Tier stirbt bald n. Harnentnahme. Hat nur wenige ccm entleert, auch in der Harnblase findet sich sehr wenig Urin Gew. 5415 g

Auch bei Verfütterung von Äthylenglykol läßt sich also keine deutliche Einwirkung auf die Ausscheidung von Zucker und N konstatieren. Die Ausscheidungen des letzten Tages vor dem Tode sind unberücksichtigt zu lassen. Das Tier war offenbar für einen derartigen Hungerversuch, der in dem Diabetes noch ein erschwerendes Moment hat, zu jung. Es schied bedeutende Mengen von N aus.

Ich lasse nun die Versuche folgen, in denen Alkohole mit 3 C-Atomen im Molekül verfüttert wurden.

Normaler Propylalkohol.

Tabelle XI.

Hündin D., kurzhaarig, teckelartig, kräftig gebaut und sehr frisch. Wiegt am 22. II. 09 9650 g, hat am Tage vor dem 1. Versuchstage gehungert, vorher gemischtes Futter erhalten. Harn ist schwach sauer, enthält keinen Zucker und nur Spuren von Eiweiß. Das Tier erhält am 22. II. 09 2 g Phlorizin subcutan.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
22. II.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 9650 g
23. „	do.	330 auf 1500	21,63	5,67	3,82	Urin sauer Gew. 9470 g
24. „	do.	800 + Erbrochenes auf 1900	23,17	6,85	3,38	Urin sauer Gew. 9260 g
25. „	do. Über 5 g Propylalkohol mit Olivenölemulsion per Schlundsonde	1262 Urin + Erbrochenes auf 2300	22,55	7,73	2,92	Gew. 8760 g. Erste Eingießung von 15 g Propylalkohol + 25 g Olivenölemulsion (mit Na. carb. und wenig Palmitinnatronseife) + 20 g Wasser wird zum großen Teil erbrochen. Spätere Eingießung von 5 g Propylakohol + 45 g Wasser wird behalten
26. „	2 g Phlorizin subcutan	I 1900 auf 2300	I 28,05	I 6,198	4,61	Gew. 8420 g
		II Urin + Erbroch. auf 900	II 1,09	II 0,126		
			29,14	6,32		
27. „	—	2240 Urin + Erbrochenes auf 3300	22,60	6,93	3,26	Gew. 8210 g

Die Kombination von Propylalkohol + Äthylalkohol bewirkte auffallenderweise, daß der Hund die Eingießung fast ganz ohne Erbrechen ertrug.

Aus Tabelle IX ist zu ersehen, daß Äthylalkohol auf die Zucker- und N-Ausscheidung keinen Einfluß ausübt.

In diesen 4 Tabellen sind 5 Versuche mit Fütterung von Propylalkohol enthalten. In zweien dieser Versuche findet sich eine deutliche Erhöhung der Zuckerausscheidung (Tabelle XI und XIII, 28. III.), in einem ein ungefähres Gleichbleiben

Tabelle XII.

Hündin B. Am 8. III. 09. Gewicht 7920 g. Urin ohne Zucker, kaum Eiweiß. Erhält nach 1tägigem Fasten am 8. III. 09. 2 g Phlorizin subcutan.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
8.III.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 7920 g
9. „	do.	331 + Erbrochenes auf 1400	14,11	3,48	4,05	Gew. 7660 g Urin leicht alkalisch
10. „	do.	482 + Erbrochenes auf 1400	16,8	4,95	3,39	Urin sauer Gew. 7230 g
11. „	do. Über 7g(?) Propylalkohol mit Wassser per Schlundsonde	820 + Erbrochenes auf 1900	17,92	5,25	3,41	Gew. 6885. Im ganzen 20 g Propylalkohol in 3 Portionen mit Wasser eingegossen; es erfolgte mehrmaliges Erbrechen, doch wird 1 Portion behalten; auch zeigt der Hund Rauschzustand.
12. „	2 g Phlorizin subcutan	Über442+ Erbroch. auf 2500	15,244	3,94	3,87	Gew. 6710 g Urin neutral
13. „	—	353 auf 1700	16,04	5,47	2,93	Gew. 6460 g

der Werte (Tabelle XIII, 26. III.) und in zweien eine Verringerung der ausgeschiedenen Zuckermenge (Tabelle XII und XIV). Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß am 4. Untersuchungstage beim Phlorizindiabetes im Hunger auch normaliter häufig schon die Zuckerausscheidung herabgeht, so daß man das Ergebnis in Tabelle XIV wahrscheinlich gar nicht als eine durch den Propylalkohol veranlaßte Verringerung der Zuckermenge auffassen darf. Tabelle XII freilich läßt schwerer die letztere Deutung zu, da am folgenden Tage die Zuckerausscheidung wieder etwas steigt. Doch kann bei der geringen Differenz von 0,8 g Zucker nicht mit Sicherheit von einer abnormen Verminderung gesprochen werden. Während aber die Zuckerausscheidung in diesen 5 Versuchen keine Einheitlichkeit erkennen läßt, so fällt in allen etwas anderes als eine regelmäßige Abweichung auf, das ist die ausnahmslose und teilweise ganz bedeutende Verminderung der Stickstoffwerte. Der Beweis dafür, daß diese wirklich durch den Propylalkohol hervorgerufen ist, ist darin zu finden, daß an den folgenden Tagen

Tabelle XIII.

Hündin D. Wiegt am 22. III. 09 8930 g, etwas räudig, hat im schwach alkalischen Harn keinen Zucker, aber vielleicht etwas Eiweiß. Das Tier erhält nach 1tägigem Fasten am 22. III. 09 2 g Phlorizin subcutan.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
22. III.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 8930 g
23. „	do.	300 auf 1300	13,54	4,23	3,2	Urin sauer Gew. 8730 g
24. „	do.	535 auf 1500	17,30	5,09	3,4	Urin sauer Gew. 8540 g
25. „	do. 5 (?) bis 10 (?) g Propylalkohol mit Wasser per Schlundsonde	420 auf 1300	15,476	5,14	3,01	Urin sauer Gew. 8230 g Eingießung von im ganzen 15 ccm Propylalkohol in 3 Portionen. 1 Portion wird mindestens behalten, sonst viel Erbrechen, doch Rausch
26. „	2 g Phlorizin subcutan	I auf 3000 II „ 250 III „ 3	I 14,563 II 0,644 III 0,063	I 2,835 II 0,035 III 0,0034	5,32	Gew. 8040 g
			15,270	2,87		
27. „	do. Unter 10 g Propylalkohol + 10 g Alkohol abs. + Wasser per Schlundsonde	370 auf 1300	10,48	3,73	2,81	Gew. 7880 g Urin sauer 10 ccm Propylalkohol + 10 ccm Alk. abs. in 3 Portionen mit 230 g Wasser werden fast ganz behalten
28. „	—	690 auf 2000	12,05	2,31	5,21	Gew. 7700 g Urin schwach sauer

die Stickstoffausscheidung wieder ansteigt. Infolge dieser bedeutenden Verminderung des Stickstoffs steigt in allen 5 Versuchen der Quotient D:N; in vieren dieser 5 Versuche zu einer bisher am 4. Untersuchungstage noch nicht gefundenen Höhe 5,3 und 5,2, 4,94 und 4,61 und erreicht auch in dem übrigbleibenden Versuche immer noch einen beträchtlichen Wert (3,87).

Tabelle XIV.

Hündin D. Wiegt am 24. V. 09 9250 g. Erhält an diesem Tage nach 1tägigem Fasten 2 g Phlorizin. Die Räude ist nach Peruolpinselung fast ausgeheilt. Im Urin kein Zucker, ganz geringer Eiweißgehalt.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
24. V.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 9250 g
25. „	do.	242 auf 1200	16,98	4,2	4,04	Urin schwach alkalisch Gew. 9100 g
26. „	do.	417 auf 1400	14,48	4,9	2,95	Urin amphoter Gew. 8850 g
27. „	do. 10 ccm Propylalkohol+10ccm Alkohol abs. + Wasser per Schlundsonde	522 auf 1200	14,75	4,62	3,19	Urin leicht sauer Gew. 8540 g 10 ccm Propylalkohol + 10 ccm Alkoh. abs. + 230 g Wasser in 3 Portionen in ca. 1stündigen Pausen. Nur wenig ausgewürgt
28. „	2 g Phlorizin subcutan	897 auf 2300	13,53[1])	2,74[1])	4,94	Urin sauer Gew. 8400 g
29. „	—	422 auf 1400	9,72	3,09	3,15	Urin neutral Gew. 8220 g

Ich teile nun meine Resultate bei Glycerinfütterung mit.

Glycerin.

Tabelle XV.

Hündin A. Hat am Tage vor Beginn der Einspritzungen gehungert, vorher gemischtes Futter erhalten. Der Harn enthält weder Zucker noch Eiweiß.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
1. VI.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 5840 g
2. „	do.	auf 1200	9,615	2,98	3,23	
3. „	do.	auf 1200	12,097	4,33	2,79	
4. „	do. Mehr als 20 ccm Glycerin + Wasser per Schlundsonde	auf 1200	12,82	4,33	2,96	Erste Eingießung fast ganz erbrochen, zweite (20 ccm Glycerin + 30 g Wasser) behalten
5. „	2 g Phlorizin subcutan	auf 1200	20,55	3,02	6,80	
6. „	—	auf 1200	11,58	4,2	2,76	

[1]) Diesen Zahlen ist der Zucker- resp. N-Gehalt von 6 ccm unverdünnten Urins, die zur Zuckerprobe benutzt wurden, hinzuzuaddieren (ca. 0,1 g Zucker).

Tabelle XVI.

Hündin B. Hat am Tage vor Beginn der Einspritzungen gehungert, vorher gemischte Nahrung erhalten. Das Tier ist ein wenig räudig. Harn ohne Zucker und Eiweiß.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
15. VI.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 8720 g
16. „	do.	auf 1000	13,02	2,87	4,54	Harn alkalisch
17. „	do.	auf 1000	13,73	3,57	3,85	Harn alkalisch
18. „	do. 20 bis 40 ccm Glycerin + Wasser per Schlundsonde	auf 1000	17,73	6,47	2,74	Harn schwach alkalisch 40 ccm Glycerin + 80 Wasser zur Hälfte erbrochen. 20 ccm Glycerin + 80 Wasser behalten
19. „	2 g Phlorizin subcutan	auf 1500	21,31	2,62	8,13	Harn alkalisch
20. „	—	auf 1200	16,13	5,29	3,05	Harn schwach sauer Gew. 7620 g

Tabelle XVII.

Hündin A. Hat 1 Tag gehungert nach gemischter Kost. Der Harn enthält weder Zucker noch Eiweiß.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
5. X.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Harn leicht alkalisch Gew. 6220 g
6. „	do.	auf 1000	21,186	4,69	4,52	Harn sauer
7. „	do.	auf 1300	19,12	5,87	3,25	Harn sauer
8. „	do. ca. 33 ccm Glycerin mit Wasser per Schlundsonde	auf 1300	21,195	6,21	3,41	Harn sauer 50 ccm Glycerin + 250 Wasser in 3 Portionen mit ½- bis 2stündigen Intervallen. Nur geringes zweimaliges Erbrechen
9. „	2 g Phlorizin subcutan	auf 2200	27,5	4,27	6,436	Harn sauer
10. „	—	auf 1400	15,44	4,826	3,2	Harn sauer Gew. 5220 g

Tabelle XVIII.

Hündin A. Hat 1 Tag gehungert nach gemischter Kost. Der Harn enthält weder Zucker noch Eiweiß. Tier ist ein wenig räudig.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
9. XI.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Harn sauer Gew. 6280 g
10. „	do.	auf 1000	14,42	4,865	2,96	Harn sauer Gew. 6050 g
11. „	do.	auf 1500	14,15	4,41	3,208	Harn sauer Gew. 5850 g
12. „	do. ca. 29 g Glycerin + ca. 29 ccm Alkohol abs. mit Wasser per Schlundsonde	135 auf 1000	13,39	4,095	3,27	Harn sauer. Gew. 5660 g. In 2 Portionen mit 150 Wasser mit Zwischenraum von 33 Minuten eingegossen. Danach kein Erbrechen
13. „	2 g Phlorizin subcutan	auf 2000	21,3	1,89	11,27	Harn sauer Gew. 5260 g Tier sehr benommen
14. „	—					Hund während der Nacht gestorben an Alkoholvergiftung. Leber sehr vergrößert und brüchig bei heller Färbung (Fettinfiltration). Noch ziemlich viel subcutanes und intraabdominales Fett. Nieren blutreich. In der Blase 10 ccm zuckerreich. Urin. Sonst kein Urin mehr gelassen

Außer diesen 4 Versuchen habe ich noch 2 andere mit Glycerin gemacht, doch habe ich bei diesen neben dem Glycerin noch andere Substanzen verfüttert. Die Wirkung des Glycerins ist aber auch in diesen ganz in dem gleichen Sinne ausgefallen, wie in den 4 mitgeteilten Tabellen.

Diese Wirkung ist sehr in die Augen fallend. Man kann sagen, es ist eine gesteigerte Propylalkoholwirkung. Schon beim Propylalkohol fanden wir die Tendenz zur Erhöhung der Zuckerportion angedeutet; beim Glycerin ist diese Wirkung zum Teil eine ganz enorme, wie das ja auch frühere Untersucher schon gefunden haben (M. Cremer). Beim Propylalkohol fanden wir ausnahmslos eine Verminderung der Stickstoffwerte, beim Glycerin ist diese Verminderung noch wesentlich gesteigert. Infolgedessen steigt auch der Quotient D:N auf weit bedeutendere Höhen. Es folgt nun ein Versuch mit einem Alkohol, der 4 C Atome enthält.

Normaler Butylalkohol.

Tabelle XIX.

Hündin B. Hat 1 Tag gehungert nach gemischter Kost. Im Urin ist weder Zucker noch Eiweiß.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
30. XI.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Urin alkalisch Gew. 6510 g
1. XII.	do.	195 auf 1000	16,13	2,5	6,45	Urin sauer Gew. 6130 g
2. „	do.	auf 1100	12,31	4,0	3,08	Urin sauer
3. „	do. ca. 5 g Butylalkohol mit Wasser per Schlundsonde	auf 1000	17,86	4,42	4,04	Urin sauer. Gew. 5750 g. Im ganzen 7 g Butylalkohol mit 450 Wasser in 3 Portionen in Intervallen von 1 bis 1½ Stunden. Nach Portion 1 und 2 Erbrechen, doch nicht alles erbrochen. Rauschzustand
4. „	—	Urin + Erbrochenes auf 2000	15,625	5,02	3,11	Gew. 5470 g

Wir können in diesem Versuche keine deutliche Einwirkung des Butylalkohols weder auf die Ausscheidung des Zuckers, noch auf die des Stickstoffes erkennen. Vielleicht ist der N-Wert etwas höher als am 4. Untersuchungstage zu erwarten war, ähnlich wie beim Äthylalkohol, doch ist D:N normal.

Es fällt in diesem Versuche übrigens die hohe Zuckerzahl am 3. XII. auf, die etwas aus der Reihe herausfällt, was sonst am 3. Untersuchungstage eigentlich nicht mehr vorkommt. Die Erklärung dafür ist nicht sicher. Jedenfalls ist das Resultat dadurch aber kaum beeinflußt worden.

Ein 2. Versuch, den ich mit Butylalkohol anstellte, ist nicht rein, da ich neben dieser Substanz leider noch eine andere verfütterte. Ich teile deshalb diese Tabelle nicht mit. Ein anderer von mir versuchter Alkohol mit 4 C Atomen ist der Erythrit. In Tabelle II haben wir gesehen, daß auch Erythrit ohne Einfluß auf Zucker und Stickstoffausscheidung ist.

Von den Alkoholen mit 5 C Atomen habe ich nur einen versucht, der am ehesten eine Einwirkung auf die Zucker- und N-Ausscheidung erwarten ließ, nämlich den normalen Amylalkohol. Es steht mir über diesen auch nur eine Tabelle zur Verfügung, die ich jetzt mitteile.

Normaler Amylalkohol.

Tabelle XX.

Hündin D. hat 1 Tag gehungert nach gemischter Kost. Im Urin findet sich weder Zucker noch Eiweiß.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
9. VIII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Urin sauer (?) Gew. 10270 g
10. „	do.	250—300 auf 1300	mehr als 12,04	2,00	6,02	Urin sauer Gew. 10110 g
11. „	do.	311 auf 1300	13,176	3,96	3,33	Urin sauer Gew. 10010 g
12. „	do. + > 6,6 g $^n/_1$-Amylalkohol mit Wasser per Schlundsonde	665 Urin + Erbrochenes auf 1850	14,92	4,73	3,15	Urin sauer. Gew. 9730 g. 10 g $^n/_1$-Amylalkohol in 300 Wasser gelöst, davon zunächst $^1/_3$ (100 ccm) eingegossen, wonach Erbrechen. Doch besteht Rauschzustand. Der Rest wird in 4 Portionen mit noch mehr Wasser in ca. $^3/_4$ stündigen Intervallen eingegossen, ohne daß Erbrechen erfolgt
13. „	2 g Phlorizin subcutan	Urin + Erbrochenes auf 2600	etwas mehr als 15,85	3,96	4,00	Urin sauer Gew. 9390 g
14. „	—	Urin + Erbrochenes auf 2750	12,97	5,05	2,57	Urin sauer Gew. 9160 g

Die Polarisation der unvergorenen, den Urin enthaltenden Flüssigkeit vom 13. VIII. ergab 0,55% Rechtsdrehung, das würde, als Zucker berechnet, 14,3 g rechtsdrehenden Zucker ergeben. Nach der Vergärung zeigte die Polarisation der gleichen Flüssigkeit 0,25% Linksdrehung, ausgedrückt als Traubenzucker. Am Normaltage vorher waren die entsprechenden Resultate der Polarisation 0,65% Rechtsdrehung bzw. nach der Vergärung 0,15% Linksdrehung.

Das Ergebnis dieses Versuches ist wieder eine Steigerung der Zuckerausscheidung, allerdings nicht von der Bedeutung, wie nach Glycerinfütterung, und daneben eine deutliche Verminderung der ausgeschiedenen Stickstoffmenge, woraus eine Erhöhung des Quotienten D:N resultiert. Wir finden also ein ähnliches Verhältnis wie beim Propylalkohol.

Hier lag es nun nahe, zu vermuten, daß sich aus dem normalen Amylalkohol Pentosen gebildet haben könnten. Pentosen ließen sich aber nicht nachweisen, denn nach der Ver-

gärung reduzierte der Urin nicht mehr Fehlingsche Lösung. Es fand sich aber eine ziemlich starke Glykuronsäurereaktion (Blauviolettfärbung der Ätherlösung nach Naphthoresorcin und Salzsäure).

Dies sind meine Alkoholversuche, die ich zunächst mitteilen will. Die übrigen gehören nicht in diese Reihe und werden, da sie zur Prüfung eines andern gesetzmäßigen Vorganges gemacht wurden, in einer späteren Arbeit veröffentlicht werden. Jedenfalls steht keiner von den nicht veröffentlichten Versuchen im Widerspruch zu den hier niedergelegten Resultaten.

Bevor ich auf letztere des näheren eingehe, will ich noch 4 Tabellen mitteilen, die die Verfütterung von Milchsäure, Alanin und Fett beim phlorizinvergifteten Hunde betreffen.

Gärungs-Milchsäure.

Tabelle XXI.

Hündin E. Hat am 27. VI. gehungert nach gemischter Kost. Im Harn weder Zucker noch Eiweiß.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D : N	
28. VI.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Harn sauer Gew. 10610 g
29. „	do.	800 auf 1800	20,15	5,54	3,64	Harn sauer Gew. 10230 g
30. „	do.	890 auf 1800	16,46	6,615	2,49	Urin neutral Gew. 10020 g
1. VII.	do. + 7,5 g Gärungsmilchsäure mit Natron in Wasser per Schlundsonde	840 Urin + Erbrochenes auf 2100	21,87	6,54	3,34	Gew. 9660 g. Milchsäure durch Natronlauge und etwas CO_3Na_2 leicht alkalisch gemacht in 2 Portionen mit je 100ccm Wasser mit $2^3/_4$ stündigem Intervall eingegossen. Es folgt kein Erbrechen. Vor der Eingießung war spontan galliges Erbrechen aufgetreten
2. „	2 g Phlorizin subcutan	über 700 auf 2400	22,086	6,3	3,506	Reaktion des Katheterurins nicht festzustellen, da das Tier auf den Fußboden uriniert u. der Urin mit Tüchern aufgenommen werden muß. Gew. 9570 g
3. „	—	530 auf 1800	13,92	5,42	2,57	Urin sauer Gew. 9330 g

d, l-Alanin.

Tabelle XXII.

Hündin A. Hat am 5. VII. 08 gehungert nach gemischtem Futter.

1908		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
6. VII.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Harn schwach sauer Gew. 5445 g
7. „	do.	auf 1000	12,25	1,4	8,75	Harn alkalisch
8. „	do.	„ 1000	10,245	3,15	3,25	Harn alkalisch
9. „	do. + ca. 15 (?) g d, l-Alanin Kahlbaum mit Wasser per Schlundsonde	„ 1000	11,26	3,325	3,39	Harn alkalisch. 30 g Alanin in ca. 250 Wasser in 2 Portionen mit $1^1/_2$ stündigem Intervall eingegossen. Nach der 1. Portion galliges Erbrechen einer größeren Menge. Von der 2. Portion nach mehr als 1 Stunde auch etwas erbrochen
10. „	2 g Phlorizin subcutan	„ 1200	13,51	3,99	3,39	Harn alkalisch
11. „	—	„ 1000	13,44	4,025	3,34	Harn sauer Gew. 4610 g

Olivenöl.

Tabelle XXIII.

Hündin B. Hat am 10. I. 09 gehungert, ist vorher mit gemischter Kost ernährt worden. Tier ist nach Peruolpinselungen jetzt fast ganz räudefrei geworden. Urin ohne Eiweiß und ohne Zucker.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
11. I.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Gew. 7280 g
12. „	do.	344 auf 1700	17,83	2,68	6,66	Harn sauer Gew. 7010 g
13. „	do.	332 auf 1500	13,00	3,94	3,30	Harn sauer Gew. 6940 g
14. „	do. + ca. 50 g Olivenöl per Schlundsonde	382 Urin + Erbrochenes auf 1500	12,93	3,885	3,33	Harn sauer. 100 g Olivenöl in 2 Portionen mit 2 stündigem Intervall eingegossen. Später 40 bis 50 g Olivenöl wieder erbrochen
15. „	2 g Phlorizin subcutan	334 Urin + Erbrochenes auf 1200	15,355	4,123	3,72	Gew. 6350 g
16. „	—	auf 1600	14,81	4,312	3,435	Gew. 6170 g

Tabelle XXIV.

Hündin D. Hat am 17. I. 09 gehungert nach gemischtem Futter. Urin ohne Eiweiß und ohne Zucker. Das Tier wird hier zum ersten Male phlorizindiabetisch gemacht.

1909		ccm Urin	Zucker	N	D:N	
18. I.	2 g Phlorizin subcutan	—	—	—	—	Harn neutral Gew. 9390 g
19. „	do.	350 auf 1000	24,04	5,74	4,19	Gew. 9280 g
20. „	do.	447 auf 1700	18,35	6,48	2,83	Harn sauer Gew. 9080 g
21. „	do.+ca.25ccm Olivenöl per Schlundsonde	557 auf 1500	20,09	5,696	3,53	Harn sauer. Gew. 8950 g. 50 g Olivenöl + 1 g Kochsalz auf einmal eingegossen. Zirka 20 ccm Öl erbrochen
22. „	2 g Phlorizin subcutan	823 + Erbrochenes auf 1170	20,8	6,08	3,42	Gew. 8720 g
23. „	—	600 auf 1700	17,586	5,355	3,28	Gew. 8450 g

In jeder dieser 4 Tabellen erkennen wir am Tage nach der Eingießung der betreffenden Substanz eine leichte Erhöhung der Zuckerausscheidung. Am bedeutendsten ist sie nach Fütterung von Alanin und in dem ersten Versuche mit Olivenöl. Ich würde aus diesen Versuchen allein aber nicht mit Sicherheit auf eine zuckervermehrende Wirkung der Substanzen schließen. Eine Stickstoffverminderung, an der wir in früheren Versuchen mit Alkoholen häufig ein ergänzendes Zeichen der zuckervermehrenden Wirkung hatten, ist hier nur bei der Milchsäure, und auch da nur ganz unbedeutend, zu erkennen, sonst ist der Stickstoff überall etwas vermehrt.

Zu berücksichtigen ist allerdings, daß man beim Alanin keine Stickstoffverminderung erwarten kann, da es selbst N enthält. Man könnte also unter Berücksichtigung dieser Tatsache in dem Alaninversuche vielleicht noch am ehesten auf eine zuckervermehrende Wirkung dieser Substanz schließen. Auch Friedrich Kraus, ferner Gläßner und Pick fanden ja hier Zuckervermehrung im Phlorizindiabetes, letztere allerdings nur beim ernährten Tiere, Kraus bei phloretinvergifteten Katzen.

Auch nach milchsaurem Natron hat man Vermehrung des Zuckers gefunden.

So sehr der erste Fettversuch für eine zuckervermehrende Wirkung des Olivenöls zu sprechen scheint, zumal bei Berücksichtigung des wenigstens nicht widersprechenden Resultates des zweiten, so wäre es doch unberechtigt, aus diesen beiden Versuchen allein das Resultat als ein auch nur annähernd sicheres bezeichnen zu wollen; dazu ist der Ausschlag in dem ersten Fettversuche zu unbedeutend und auch sonst nicht ganz eindeutig.

Zusammenfassung.

1. Von den hier versuchten Alkoholen bewirkten diejenigen, die die C-Atome in ungerader Zahl im Molekül enthalten (Methylalkohol, norm. Propylalkohol, Glycerin, norm. Amylalkohol), fast immer eine Erhöhung der Zuckerausscheidung. Nur beim Propylalkohol ist die Erhöhung nicht regelmäßig.

2. Die Alkohole mit 3 und 5 C-Atomen zeigten regelmäßig auch eine Verminderung der N-Ausscheidung, der Methylalkohol aber nur bei gleichzeitiger Verabreichung von norm. Valeriansäure und in geringem Maße.

3. Die versuchten Alkohole mit gerader Zahl der C-Atome im Molekül bewirkten keine Erhöhung der Zuckerausscheidung (Äthylalkohol, Äthylenglykol, norm. Butylalkohol, Erythrit).

4. Auch norm. Valeriansäure (mit Alkali) bewirkte keine Vermehrung der Zuckerausscheidung; Zucker- und N-Ausscheidung waren etwas vermindert.

5. Gärungsmilchsäure (mit Alkali) bewirkte eine leichte Erhöhung der Zuckerausscheidung bei geringer Verminderung der N-Ausscheidung.

6. d, l-Alanin ergab eine leichte Erhöhung der Zuckerzahl mit Erhöhung der N-Zahl.

7. Olivenöl bewirkte in einem Falle eine Erhöhung der Zuckermenge, im zweiten nicht. In beiden Fällen war die N-Ausscheidung etwas erhöht.

Aus den Versuchen erhellt, daß eigentlich das wichtigste bei der Beurteilung der Wirkung einer Substanz auf die Zuckerbildung im Phlorizindiabetes das Verhalten der N-Ausscheidung ist, wenigstens wenn die gefütterte Substanz stickstoffrei ist. Denn in der Verminderung der N-Ausscheidung ist doch wohl eine Eiweiß-Sparung zu erkennen. Nimmt man dies an, so muß

man z. B. den Propylalkohol als Zuckerbildner betrachten, auch wenn die Zuckerausscheidung nicht immer erhöht ist. Die Eiweiß-Sparung spricht aber stark dafür, daß aus den Substanzen, bei deren Verfütterung sie eintritt, zumal bei gleichzeitiger Erhöhung der Zuckerausscheidung, auch wirklich direkt Zucker entsteht. Wollte man ihnen nur eine Reizwirkung zuerkennen, so müßte man annehmen, da der Glykogengehalt des Körpers in meinen Versuchen mindestens sehr stark vermindert war, daß sie einen Reiz zur Zuckerbildung aus Fett bewirkten.

Ich gehe auf diese Verhältnisse erst in einer weiteren Mitteilung näher ein.

In dem auffallenden Verhalten, daß unter den untersuchten Alkoholen nur die mit ungerader C-Zahl Zuckervermehrer waren, liegt, falls sich dieses Verhalten in weiteren Versuchen bestätigen sollte, was ich glaube, offenbar ein interessantes Gesetz verborgen, das für die Erkenntnis der Zuckerbildung im Organismus von Bedeutung zu werden verspricht.

Zur Frage der Einwirkung von Alkohol auf den Gehalt der tierischen Organe an Phosphatiden.

Von

N. Sieber.

(Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserl. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg.)

(Eingegangen am 19. November 1909.)

Die Frage nach der physiologischen Wirkung des Alkohols, welcher im 12. Jahrhundert durch Albukasis entdeckt worden ist, weist bekanntlich eine sehr umfangreiche Literatur auf, welche an die Namen von Haller[1]), Fontona[2]), A. Humboldt[3]), Morgani[4]), Bischa[5]), Magandi[6]), Mitscherlich[7]) und von vielen anderen anknüpft.

Je näher wir dieser höchst interessanten Frage durch die vielen Untersuchungen und Arbeiten bedeutender Gelehrter und Forscher treten, um so mehr neue Punkte tauchen auf. Besonderes Interesse erregt die Frage nach dem Einfluß des Alkohols auf die Zelle und speziell auf gewisse Bestandteile derselben.

Zuerst will ich kurz auf die für diesen Punkt inbetracht kommende Literatur hinweisen und dann zu meinen Untersuchungen übergehen.

---

[1]) Dissertation, Göttingen 1753.

[2]) Sur le Venin de la Vipère, Flor. 1777; G. Bagli, Opera, Lugd. Bot 1745. A. Fontana.

[3]) Über den Gehalt der Muskel- u. Nervenfasern 2, 230 u. 340.

[4]) Morgani, De sid et caus. morb.

[5]) Recherches sur la Vie et la mort.

[6]) Precis elem. d. Physiol, Paris 1825.

[7]) Über d. Einwirk. d. Alkoh. u. Äthers auf d. Tier.-Organ., Berl. med. Zeitschr. 1843, Nr. 20 bis 21.

Nur ein geringer Teil des Alkohols, und zwar nach Binz ca. 3%, wird von Nieren, Lungen und Haut in unveränderter Form ausgeschieden, der übrige Teil verbrennt im Organismus, wie Liebig[1]) nachgewiesen hat, zu CO_2. Den Alkoholgehalt im Blute nach Eingabe desselben per os hat zuerst Magandie[2]) durch den Geruch bestimmt. Persi[3]) wies Alkohol im Blute nach, indem er denselben abdestillierte, und das Destillat verbrennen ließ. — Tiedemann[4]) konnte in der ausgeatmeten Luft den ins Blut injizierten Alkohol erkennen. Unumstößlich nachgewiesen ist jedoch die Anwesenheit von Alkohol in der ausgeatmeten Luft erst von J. M. Setschenow[5]). Die Verteilung des Alkohols in den Organen hat Schulinus[6]) studiert. Der Chemismus der Atmungsvorgänge unter Einwirkung von Alkohol sowie der Einfluß des Alkohols auf die Körpertemperatur, welche bei gesunden und kranken Menschen hierbei fällt, sind von einer ganzen Reihe von Autoren untersucht worden. Die hemmende Wirkung des Alkohols auf die Oxydationsprozesse sowie die quantitative Verminderung der ausgeatmeten CO_2 haben zahlreiche Forscher, wie z. B. W. Prout[7]), Vierordt[8]), Bëcker[9]), Hamond[10]), Perrin[11]), Setchenow[12]), Schmiedeberg[13]), Manassein[14]) und nach der Methode der Oxydation von Benzol zu Phenol die Herabsetzung der Oxydation, G. Schumowa und Simanowski[15]) nachgewiesen. Die Wirkung auf das Nervensystem wurde ebenfalls vielseitig erforscht.

Der Stoffwechsel und die Stickstoffassimilation unter dem Einfluß von Alkohol sind auch von zahlreichen Forschern studiert worden. Fokker[16]) beobachtete nach Alkoholgenuß eine Eiweißersparnis von 6—20%. Chamber und Marvand[17]) konstatierten eine Verminderung von Harnstoff und Harnsäure. v. Jaksch[18]) beobachtete bei Kindern eine bis auf 50% herabreichende Verminderung der Harnsäure. Serdetschny[18]) fand bei Hunden

---

[1]) Tierchem. 3. Aufl.
[2]) Precis. elem. de Physiol 1825.
[3]) Experim. research., London 1839.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 5.
[5]) Dissertation, 1860.
[6]) Dissertation, Dorpat 1865.
[7]) Thompson, Annals of philos. Schw. J. f. Chem. a. Phys. 1815, XV.
[8]) Physiol. des Attim. usw., Karlsruhe 1845.
[9]) Beiträge z. Heilk., Genf 1849, 1.
[10]) The Americ. J. of the Med. G. 1856.
[11]) Compt. rend. Acodem. 59, 1864.
[12]) St. Petersb. med. Zeitschr. 14, Heft 2, 95, 1868.
[13]) Dissertatien, A. Botkin, 3, 1879.
[14]) Pflügers Archiv 33, 251.
[15]) Zitiert nach Voit Phys. v. Hermann. Bd. VI.
[16]) Marvaud, Les elements d'épargne. Paris 1874.
[17]) Der Weingeist als Heilmittel. Wiesbaden 1888.
[18]) Dissertation, 1868.

eine verminderte Stickstoffassimilation; außerdem konnte er feststellen, daß der Alkohol auf die Resorption von Eisen und Kalkverbindungen aus dem Magendarmkanal ins Blut hemmend einwirkt. Mogiljansky[1]) studierte die Fettassimilation und den N-Stoffwechsel, Fawitzky[2]) die Stickstoffmetamorphose bei Lebercirrhose. Pringsheim[3]) meint, daß die Eiweißstickstoffersparnis einen komplizierten Prozeß darstellt, welcher von zwei einander entgegengesetzten Ursachen abhängt. — Die Resorption des Alkohols aus dem Magen ins Blutgefäßsystem findet im allgemeinen sehr rasch statt, und zwar schon während 2 bis 3 Minuten, nachdem der Alkohol in den Magen gekommen ist. Was die Wirkung des Alkohols auf das Blut anbetrifft, so hat sich erwiesen, daß bei starker Alkoholintoxikation das Blut eine schwarze Färbung annimmt.

Bei chronischer Vergiftung wird das Blut flüssiger, büßt die Plastizität ein, der Erythrocytengehalt nimmt ab (Dogel[4]) und das Blutserum wird trübe. Das während der Trunkenheit entnommene Blut gibt seinen Sauerstoff nach Leontjew noch weniger leicht ab, als normales. Die Einwirkung des Alkohols auf die Leber ist von zahlreichen Forschern studiert worden. Es erwies sich, daß die Leberfunktionen in recht wesentlicher Weise, sogar bis zum vollständigen Versagen, gestört sein können. Es ist z. B. die regelmäßige Glykogenbildung und die Regulation der ins Blut übertretenden Zuckermengen gehemmt usw. Andererseits aber ist auch als Endergebnis einer Reihe von Erscheinungen eine Stockung sämtlicher Leberfunktionen nachgewiesen worden; die detaillierte Wirkung des Alkohols aber auf die verschiedenen Leberfunktionen und auf viele andere Organe ist immer noch unbekannt.

Über die Wirkung des Alkohols auf die Magenverdauung liegen gleichfalls zahlreiche Veröffentlichungen vor. Die ersten diesbezüglichen Untersuchungen hat Meyer bereits in der 2. Hälfte des 17. Jahrhunderts (1663) angestellt. Später haben sich Mitscherlich, Frerichs, Claude-Bernard, Büchner, Wolff, Wolfhardt, Gluzinski, Klemper, Orfila, Radzikowski, Metzger, Spiro u. a. mit diesem Gegenstande beschäftigt. Die einen Forscher injizierten den Alkohol ins Blut, die anderen flößten ihn in den Magen oder aber ins Rectum ein.

Die interessante Beobachtung, welche von Physiologen gemacht worden ist und welche die Wirkung des Alkohols auf die Magensaftsekretion betrifft, hat auch zu nicht geringen Meinungsverschiedenheiten Anlaß gegeben. Einige suchten auf Grund dieser Beobachtung zu beweisen, daß der Alkohol sowohl auf die Verdauung, als auch überhaupt auf den Organismus nützlich einwirkt.

Eine im Laboratorium von J. P. Pawlow durch S. Ztowitsch vorgenommene Untersuchung über die Wirkung des Alkohols auf die

[1]) Dissertation, 1889.

[2]) Dissertation, 1888.

[3]) Zeitschr. f. diagnost. u. physikal. Therap. 10, Heft 5.

[4]) Veröffentlich. d. Kommission zur Erforschung d. Alkoholismus 1, 1895 (russisch). Zitiert nach Dogel.

Verdauung ergab jedoch, daß allerdings die Einverleibung von Alkohol in den tierischen Organismus eine gesteigerte Magensaftsekretion mit reichlichem Pepsingehalt und stärkerer Acidität hervorruft, daß aber nichtsdestoweniger die Verdauung hierbei nicht beschleunigt, sondern gehemmt wird, weshalb der Verfasser zu dem Schlusse kommt, daß der Alkohol wohl einen starken Reiz auf die Magendrüsen ausübt und bei mäßigerem Gebrauch keine konstanten Veränderungen derselben d. h. keine Zellenasthenie hervorruft; immerhin ist jedoch die Wirkung des Alkohols unter normalen Bedingungen als eine nicht nützliche zu bezeichnen.

Die an und für sich richtige Beobachtung Liebigs[1]), daß der Alkohol im tierischen Organismus verbrennt, führte jedoch zu einer ganzen Reihe von Mißverständnissen und fehlerhaften Anschauungen über die Wirkung, welche der Alkohol auf den Organismus des Menschen oder der Tiere ausübt, d. h. in der Frage von dem Nutzen oder der Schädlichkeit des Alkohols.

Die meisten Beobachtungen sind über chronischen Alkoholismus, über die intravitalen Erscheinungen beim Menschen und bei Tieren gemacht worden. Im allgemeinen äußert sich die Alkoholintoxikation hauptsächlich am Vasomotorensystem, dann am Rückenmark und am Gehirn. Richardson[2]), welcher an Tieren Versuche mit akuter Alkoholintoxikation angestellt hat, beschreibt die Vergiftungserscheinungen in folgender Weise: Nach Einverleibung des Alkohols war zu beobachten, daß der Puls und die Atmungsbeschleunigung zurückgeht, sodann Schwäche und Koordinationsstörung, schließlich Parese, Sensibilitätsstörung und Temperaturverminderung eintreten. Neben Hemmung willkürlicher Bewegungen findet Bewußtseinsstörung, Stockung der Herztätigkeit und der Tod statt.

Die histologischen und pathologisch-anatomischen Veränderungen sind beim chronischen Alkoholismus nach Meinung der Spezialisten sehr ungenau studiert worden. Ein sehr wertvolles Material- und Schlußfolgerungen aus der Literatur über experimentellen Alkoholismus finden wir in der Veröffentlichung von N. Kulbin[3]), welcher an verschiedenen Tieren (Kaninchen, Katzen, Hunden und weißen Mäusen) experimentelle Forschungen vorgenommen hat, welche $2^1/_2$ Jahre gedauert haben. Die Ergebnisse der Forschung waren, daß vor allem der Magen affiziert wird und daß in ihm die stärksten anatomischen Veränderungen, welche in parenchymatöser Degeneration bestehen, zu beobachten sind, schließlich werden sämtliche Magenschichten von Bindegewebszellen durchsetzt und die Magenwand wandelt sich in Narbengewebe um. Dieselben Verhältnisse sind in größerem oder geringerem Grade auch in den übrigen Organen zu beobachten. So sieht man z. B. in der Lebercirrhose, daß das Bindegewebe längs den Pfortaderästen wuchert; in anderen Organen setzt sich die Wucherung den Gefäßen

[1]) Tierchem., 3. Aufl.

[2]) Med. Times and Gazette 1869, On alcoholcourse of six conter lectures. London 1878.

[3]) Dissertation, 1895. Verbande de Alkohol comm. 1898.

entlang fort. Im Gehirn findet Infiltration durch Bindegewebszellen statt, welche in den Gehirnhäuten beginnt und sich längs der Gefäße der Gehirnrinde fortsetzt. — In den Nieren wird die chronische parenchymatöse Entzündung durch die interstitielle ersetzt.

Im Herzen kommen auch bedeutende Veränderungen zustande, unter anderen Fettablagerungen in den intermuskulären Interstitien. Die Veränderungen der Gefäßwände kommen schon in einer sehr frühen Periode des Alkoholismus zum Vorschein, und zwar äußern sie sich in Blutextravasaten, welche an sämtlichen Organen zu beobachten sind.

Die Frage, wie lange der Alkohol im Organismus verbleibt, wurde in ganz verschiedener Weise beantwortet; es ist unmöglich, hier die verschiedenen diesbezüglichen Anschauungen zu berühren, und ich will nur die von A. Danilewsky in der der Kommission zur Bekämpfung des Alkoholismus vorgelegten Schrift vertretene Ansicht wiedergeben:

„Der Organismus vermag den Alkohol zu verbrennen, jedoch bei weitem nicht so rasch, wie Liebig annimmt". Unser Organismus — heißt es dort weiter — besitzt die ungünstige Fähigkeit, einen bedeutender Teil des aufgenommenen Alkohols in den lebenden Gewebsteilen zurückzubehalten und denselben nur allmählich durch Vereinigung mit Sauerstoff zu zerstören. Der Alkohol erlangt auf diese Weise die Fähigkeit, als solcher verhältnismäßig lange im Körper zu verbleiben.[1])

Die funktionellen Störungen, welche unter Einwirkung von Alkohol zu beobachten sind, und der Umstand, daß der Alkohol von den Geweben zurückgehalten wird und daß diese sich nur ganz allmählich durch Verbrennung desselben entledigen, andererseits aber auch die Ergebnisse experimenteller pathologisch-anatomischer Forschungen berechtigen uns zu der Überzeugung, daß der Zelleninhalt, sein Protoplasma, oder, allgemein gesagt, dessen Chemismus sich derartigen Einwirkungen gegenüber, wie die Einverleibung von Alkohol, nicht indifferent verhalten kann.

Man muß jedoch zugeben, daß unsere Kenntnisse über die hierbei sich abspielenden chemischen Vorgänge, d. h. über die Fragen, in welcher Weise der einverleibte Alkohol auf die den Bestand der Zelle bildenden Stoffe einwirkt, ob sich das gegenseitige Verhältnis der in der Zelle enthaltenen Stoffe verändert usw., immer noch sehr spärliche, oftmals sogar einander zuwiderlaufende sind.

Höchst interessant und wichtig sind die Beobachtungen von Overton[2]). Seine Untersuchungen ergaben, daß die einwertigen Alkohole ebenso, wie auch andere narkotische Gifte, rasch durch die äußeren Teile der Zelle in deren Protoplasma eindringen, andererseits jedoch aber dasselbe auch wieder leicht infolge osmotischer Druckveränderung verlassen, wenn das die Zelle umgebende Milieu an Alkohol ärmer wird; deshalb hängt folglich die in verschiedenem Grade stattfindende Protoplasma-

[1]) Veröffentlich. der Alkoholkommiss. 1, 25, 1895 (russisch).

[2]) Pflügers Archiv 92.

zerstörung unter Einwirkung von Alkohol von verschiedenen Momenten, unter anderen hauptsächlich von dem osmotischen Drucke ab. Der Alkohol wirkt nach Overtons Meinung zuerst auf die höheren, dann auf die niederen Funktionen, indem er allmählich die Zelle zerstört.

In Anbetracht des oben Gesagten und um zu ergründen, ob und in welcher Richtung im Vergleich zur Norm sich der Bestand der Organe, Gewebe und Zellen unter der Einwirkung von verschiedenen in den tierischen Organismus einverleibten Alkoholdosen verändert, habe ich vor 2 Jahren experimentelle Untersuchungen an einer ganzen Reihe von Tieren, welchen im Laufe einer verschiedenen Zeitdauer ohne Unterbrechung oder mit Intervallen Alkohol von verschiedener Konzentration per os einverleibt wurde, begonnen. Die Tiere, Hunde und Kaninchen, waren beständig unter Aufsicht bei guter Ernährung und Pflege.

Im ganzen dienten 30 Tiere — 15 Hunde und 15 Kaninchen — zu den Versuchen; sowohl die einen, als auch die anderen wurden in Gruppen geteilt, wobei ein Teil der Tiere Alkohol per os eingeflößt bekam, der andere Teil aber keinen Alkohol erhielt und zur Kontrolle diente.

Nach verschiedenen Zeiträumen, die davon abhingen, zu welcher Kategorie die Tiere gehörten, wurden sie durch Entblutung getötet, sodann seziert; hierbei wurden die Organe und Gewebe makroskopisch untersucht, danach in entsprechender Weise bearbeitet und nach der einen oder anderen Richtung chemisch untersucht.

In vorliegender Veröffentlichung soll über die Ergebnisse von Untersuchungen über den Gehalt und die Verteilung von Phosphatiden, und zwar von Jecorin und Lecithin hauptsächlich in den Organen von 3 Versuchshunden, welchen verschiedene Alkoholquantitäten einverleibt worden waren, und 3 Kontrollhunden, welche nichts außer der Nahrung bekommen und unter den nämlichen Bedingungen, wie die Alkoholhunde gelebt hatten, berichtet werden.

Das Lecithin, welches dank seinem Zellmembranbildungsvermögen hauptsächlich für die Regelung der chemischen Dynamik der Zelle von Bedeutung ist, gehört zu den interessantesten Körpern der organischen Welt.

H. Meyer und Overton[1]) haben durch ihre Untersuchungen nachgewiesen, daß die Aufnahme dieses oder jenes Stoffes von der Löslich-

[1]) Pflügers Archiv 92.

keit desselben in den Lipoiden abhängig ist. Werner[1]) berichtet, daß mit Radium oder X-Strahlen bearbeitetes Lecithin aktiv wird und bei subcutaner Injektion wie die genannten Strahlen selbst wirkt. Einzelne Lecithinkomponenten unterliegen nicht der Aktivierung. St. Detre und Sellei[2]) haben gefunden, daß Lecithin Einfluß auf den Zellkern hat oder daß der letztere eine Verwandtschaft zu Lecithin besitzt. Außerdem wurde konstatiert, daß die Mononucleine dasselbe phagocytieren und die Aufnahme nicht nur in das Protoplasma, sondern auch in den Kern, welcher dabei dem Waben ähnliche Struktur annimmt, stattfindet. Diese Erscheinung wurde von beiden Forschern für Phagokariose gehalten. Posener und Rapapart[3]) bestätigen diese Beobachtung und berichten, daß nur das intracelluläre Lecithin von den Fettfarben gefärbt wird. Für die große Bedeutung des Lecithins in der Lebenstätigkeit spricht seine Anwesenheit in dem Keim, wobei in der ersten Jugend eine Steigerung an seinem Gehalt stattfindet.

Nach Siwerzew[4]) beginnt die Lecithinsteigerung im 4. Lebensmonat und erreicht das Maximum im 2. Lebensjahr. Die Bedeutung des Lecithins für verschiedene Organe ist offenbar verschieden. Glikin gibt den Lecithingehalt des Hundeknochenmarks in verschiedenem Alter an: Bei Geburt bis 37,7%, nach 5 Wochen bis 18,66%, nach 10 Wochen 9.52%.

Dasselbe Verhältnis wurde auch im Knochenmark der Kinder konstatiert. Im 7. Monat z. B. 61,19%, im 13. 29,24%, im 16. 24,03%, bei einem 2 Jahre alten 13,33%, bei einem 34 Jahre alten Mann 3,3% und bei einem 88 Jahre alten Mann 1,33%.

Slowzoffs[5]) Untersuchung über die biologische und therapeutische Lecithinwirkung zeigte, daß eine Organisation des Gewebseiweißes unter dem Einfluß des Lecithins verstärkt wird und sich im Zurückhalten des N und P äußert. Die Bedeutung des Lecithins bei der Hämolyse, wie bei Vergiftungen (z. B. mit dem Schlangengift, wo das Lecithin als Aktivator auftritt) ist längst bekannt. Landsteiner und Botelle[6]) berichten über eine Schwächung des Tetanotoxins bei Vermischung desselben mit einigen Lipoiden, wie Cholesterin und seinen Derivaten, Protagon und Lecithin, welche auf Adsorption beruht. Die Pathologie kennt eine ganze Reihe von Fällen, wo diese oder jene Erkrankung einen bestimmten Einfluß auf den Lecithingehalt gewisser Organe ausübt.

Über den Einfluß des Hungers auf den Lecithingehalt der Organe resp. der Zelle herrschen Meinungsverschiedenheiten. Tomannscheff[7]) bestimmte im Laboratorium von A. Danilewski die Phosphorverteilung

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 31.
[2]) Orvesi hetilop 99, 979.
[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1905, Nr. 10.
[4]) Dissertation, St. Petersburg 1903.
[5]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 7, 1905.
[6]) Centralbl. f. Bakt. 42, 562.
[7]) Dissertation, 1897.

in verschiedenen Fällen und berichtet nur über den Verlust des anorganisch gebundenen Phosphors in den Organen beim Hunger und über keine Veränderung dagegen im Gehalt des organisch gebundenen Phosphors. Heffter[1]) fand dagegen beim Hunger der Kaninchen einen Lecithinverlust von 3 bis 1,47% Lecithin. Der gleiche Autor konstatierte bei langdauernden Krankheiten und Vergiftungen mit Phosphor ebenfalls einen bedeutenden Verlust an Lecithin. Die klinischen Beobachtungen weisen nicht wenige Beispiele im gleichen Sinne auf. Nach Erben[2]) ist ein Lecithinverlust der Erythrocyten bei Diabetes mel. zu konstatieren, obgleich im Plasma ein mehr als genügender Gehalt vorhanden ist, geschweige ein Verlust an Lecithin statthat. Das Lecithin und die mit ihm verwandten Körper mit der ihnen eigenen komplizierten Struktur und einer ganzen Reihe labiler, leicht reagierender Komplexe, von denen einige zu den wichtigsten Bestandteilen des Zelleninhalts gehören, bilden noch heute ein wenig aufgeklärtes Gebiet.

Der Umstand, daß unsere Kenntnisse über den quantitativen Gehalt und über die Verteilung des Lecithins und der übrigen Phosphatide so spärlich sind, läßt sich dadurch erklären, daß uns bis in die letzte Zeit genaue Methoden zur Bestimmung dieser komplizierten und leicht zersetzbaren Verbindungen fehlten. Noch vor kurzem, sogar auch noch jetzt beschränkte sich die Feststellung des Lecithingehaltes z. B. auf die Bestimmung der Phosphormenge in ätherisch-alkoholischen Extrakten, wobei letztere als Maß für den ersteren galt.

Seitdem aber konstatiert worden ist, daß es Phosphatide mit verschiedenem Phosphorgehalt gibt, nämlich nicht nur Mono-, sondern auch Diphosphatide (vielleicht werden auch noch Phosphatide mit größerem Phosphorgehalt entdeckt werden), darf allein aus dem Phosphorgehalt auf die Menge der Phosphatide und speziell des Lecithins nicht geschlossen werden.

Der Gang unserer Untersuchung war folgender:

Die Organe sowohl normaler Hunde als auch solcher, welche verschiedene Mengen Alkohol erhalten hatten, wurden in einem mit einem elektrischen Ventilator versehenen Apparat bei niedriger Temperatur getrocknet und in Pulver verwandelt, und dann auf ihren Gehalt an Phosphatiden untersucht. Vor allem wurde in einer kleinen Quantität der Substanz jedesmal der Wassergehalt der im Apparat bei niedriger Temperatur getrockneten Organe bestimmt, um das Gewicht der absolut trockenen Substanz zur Berechnung der gefundenen Quantitäten von Phosphatiden in Prozent der Trockensubstanz bezeichnen zu können. Die Isolierung und Bestimmung des Phosphatidgehaltes geschah

[1]) Arch. f. Pathol. u. Pharmakol. 28,
[2]) Centralbl. f. inn. Med. 28, 1090, 1907.

stets nicht in den bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Organen, sondern in den bei niedriger Temperatur getrockneten. Ich konnte hierbei annehmen, daß die von mir untersuchten Organe resp. Gewebe nicht verändert waren, sondern sich dem intravitalen Zustand näherten. Der Phosphatidgehalt wurde in sämtlichen Organen des Tieres, sowie im Blute, das sofort nach der Gerinnung zur Untersuchung kam, bestimmt. Das Blut wurde mit dem 10fachen Gewicht 96%igen Alkohols, die getrockneten und gepulverten Organe mit 85%igen Alkohol behandelt, von dem 20fache und sogar größere Quantitäten zur Extraktion verwandt wurden. Zur Bestimmung der Phosphatide wurden gewöhnlich 3 bis 5 g des getrockneten Organs verwendet. Die Extraktion mit Alkohol wurde in einem Extraktionsapparat mit angeschliffenem Kühler während 10 bis 12 Stunden bei Wasserbadtemperatur vorgenommen und die Extraktion fortgesetzt, bis nichts mehr in Lösung überging. Nach dem Erkalten wurde die alkoholische Lösung von dem unlöslichen Rückstande, welcher mit dem Alkohol gleicher Stärke mehrmals ausgewaschen wurde, abfiltriert, das Filtrat im Vakuum bei niedriger Temperatur bis zur Trockne eingedampft. Der trockene Rückstand wurde mit Äther aufgenommen, wobei meistens nicht alles sich in Äther löste. Fast immer hinterblieb eine sirupartige Substanz, von der die ätherische Lösung abfiltriert und die zu wiederholten Malen mit Äther ausgewaschen wurde. Die Ätherextrakte wurden vereinigt und mit Aceton versetzt. Der sich bildende Niederschlag wurde auf gewogenem Filter abfiltriert, mit Aceton ausgewaschen und im Vakuum bis zum konstanten Gewicht getrocknet. Der Niederschlag bestand aus Phosphatiden, hauptsächlich entsprach er dem Lecithin und zu einem geringen Teil anderen Phosphatiden, wie Jecorin und dergleichen. In den Fällen, wo es darauf ankam, die Menge der einen sowie der anderen Substanz einzeln zu bestimmen, wurde der Phosphatidniederschlag nach der Wägung von neuem in Äther aufgelöst. In vielen Fällen löste sich bei der wiederholten Bearbeitung mit Äther nicht der ganze Rückstand; in diesen Fällen wurde die ätherische Lösung abfiltriert und mit abs. Alkohol versetzt; enthielt die Lösung Jecorin (resp. eine jecorinartige Verbindung oder dessen Derivate) neben dem Lecithin, so bildete ersteres hierbei einen Niederschlag, dessen Menge durch

Wägung bestimmt wurde. Bildete sich jedoch nach Zusatz des absoluten Alkohols kein Niederschlag in der ätherischen Lösung, so wurde angenommen, daß er keine Jecorin, resp. ihm nahestehende Körper enthielt. In den Fällen aber, wo es zweckmäßig schien, mit möglichster Genauigkeit den quantitativen Gehalt an der einen und an der anderen Substanz, d. h. sowohl an Lecithin als auch an Jecorin zu bestimmen, z. B. in Extrakten aus Gehirn oder irgend einem anderen Organ, nahm die Analyse des alkhoholischen Extrakts vom Momente der Gewinnung einer ätherischen Lösung an einen anderen Verlauf. Letztere wurde nämlich nicht mit Aceton, sondern mit absolutem Alkohol gefällt. Hierdurch bildete sich ein dem Jecorin entsprechender Niederschlag, welcher von der alkoholisch-ätherischen Lösung abfiltriert und hiernach getrocknet und gewogen wurde. Die alkoholisch-ätherische Lösung wurde dann abdestilliert und der Rückstand im Vakuum bis zu konstantem Gewicht getrocknet und gewogen; er bestand hauptsächlich aus Lecithin. Dieser Rückstand wurde in einigen Fällen von neuem in Äther gelöst und hierauf mit Aceton versetzt, der Niederschlag abfiltriert und vakuumtrocken als Lecithin gewogen.

In einer gewissen Quantität des Phosphatidniederschlages aus verschiedenen Organen wurde der Phosphorgehalt nach Neumanns Methode ermittelt, um über die Reinheit des gewonnenen Phosphatidniederschlages ein richtiges Urteil zu bekommen.

In Anbetracht dessen, daß ich hauptsächlich nur vergleichende, relative Resultate über den Phosphatidgehalt der Organe zu erhalten wünschte, habe ich es in den meisten Fällen bei einmaliger Fällung des Lecithins ohne weitere Isolierung von ähnlichen Körpern bewenden lassen, obwohl es sich hier um ein Gemenge von Produkten handeln konnte, und zwar hauptsächlich wegen der leichten Zersetzbarkeit der Phosphatide und weil sie als Kolloide einen gewissen katalytischen Einfluß sogar auf chemisch feste Körper ausüben können. In den Organen mit einem größeren Lecithingehalt wurde neben der gewöhnlichen einmaligen Fällung der ätherischen Lösung des trockenen Alkoholauszuges eine Fällung des Jecorins durch Alkohol vorausgeschickt und dann das Lecithin in gewöhnlicher Weise mit Aceton oder anderen Fällungsmitteln zur Abscheidung gebracht.

Hund Nr. 1.

Junger schwarzer Pudel von 12,7 kg Gewicht erhält vom 30. April 1907 an (ebenso wie Hund Nr. 2) Alkohol. Es wurden ihm täglich durch die Schlundsonde 38,1 ccm 40%iger Alkohol oder auf abs. Alkohol umgerechnet = 12,7 ccm oder je 1 ccm pro Kilogramm Körpergewicht beigebracht. Der Hund ertrug, namentlich in der ersten Zeit die eben angeführte Alkoholmenge ganz ruhig, fast ohne jegliche Reaktion. Im Laufe eines Monats bekam er also 371 ccm. Nach Verlauf von 8 Monaten täglicher Zuführung von Alkohol weigerte sich das Tier gegen die Eingabe, weshalb ihm 2 Wochen lang Ruhe gegönnt wurden. Hiernach genoß es wieder 2 Monate lang täglich seine gewöhnliche Portion Alkohol, sodann trat wieder eine 2 Wochen dauernde Ruhepause ein, worauf von neuem eine 2 Monate lange Alkoholperiode folgte. Im Laufe dieser ganzen Zeit, d. h. von 13 Monaten mit 1 Monat und einigen Tagen Ruhepause, hatte der Hund also 10 l 800 ccm 40%igen Alkohol oder auf abs. Alkohol berechnet 4320 ccm bekommen. Das Gewicht des Hundes blieb im Laufe des ganzen Versuches fast ohne Veränderung. Nach Schluß desselben wog das Tier 13 kg 150 g. Am 6. Juli 1908, also 2 Monate nach Aufhören des Einflößens von Alkohol, wurde das Tier durch Entblutung getötet. Die sofort vorgenommene Sektion ergab durchaus keine Veränderungen in den inneren Organen, welche zerkleinert, getrocknet und sodann auf ihren Gehalt an Phosphatiden untersucht wurden.

Gehirn.

1. 5,0 g der mit Hilfe eines Ventilators getrockneten Gehirnsubstanz büßten beim Trocknen bis zu konstantem Gewicht 4,83% Wasser ein und entsprachen folglich 4,78 g des abs. trockenen Gehirns. Darin 0,9427 g oder 20,0% Phosphatide, worin 0,03676 g entsprechend 3,9% Phosphor gefunden wurden.

2. In einer neuen Portion von 2 g entsprechend 1,903 g trockener Substanz wurde 0,0431 g = 2,3% Jecorin und 0,3309 g = 17,7% Lecithin erhalten.

Lunge.

In 3,0 g oder 2,75 g bis zu konstantem Gewicht getrockneter Lungensubstanz wurde 0,1812 g oder 6,58% Phosphatide gefunden und darin 0,00739 g = 4,08% Phosphor ermittelt.

Muskeln.

3,0 g = 2,79 g abs. trockener Muskelsubstanz enthalten 0,0294 g = 1,07% in Äther unlöslichen Rückstand und 0,0202 g oder 0,73% Phosphatide.

Herz.

In 3,0 g = 2,85 g abs. trockener Herzsubstanz fanden sich 0,1186 g oder 4,17% Phosphatide mit 0,00618 g = 4,37% Phosphor.

Milz.

2,0 g = 1,875 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Milzsubstanz enthielten 0,0654 g = 3,5% Phosphatide mit 0,00208 g = 3,19% Phosphor.

Niere.

In 3,0 g = 2,75 g abs. trockenem Nierengewebe wurden 0,1598 g = 5,81% Phosphatide gefunden, worin 0,00607 g = 3,8% Phosphor enthalten waren.

Leber.

3,0 g = 2,75 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Leber enthielten 0,1089 g = 3,96% Phosphatide, worin Phosphor = 0,00446 g oder 4,1% gefunden wurden.

Magenschleimhaut.

In 2,0 g = 1,83 g konstant trockener Substanz 0,0702 g = 3,83% Phosphatide, worin 0,00224 g oder 3,2% Phosphor gefunden wurden.

Magenwand.

Aus 3,0 g = 2,7 g trockener Substanz wurden 0,0646 g oder 2,39% Phosphatide erhalten mit 0,00193 g oder 3,0% Phosphor.

Darmschleimhaut.

In 3,0 g = 2,75 g trockenem Gewebe wurden 0,1468 g = 5,15 g Phosphatide mit 0,0441 g = 3,0% Phosphor gefunden.

Darmwand.

3,0 g = 2,85 g abs. trockener Darmwand enthielten 0,07125 g = 2,5% Phosphatide, worin 0,00242 g = 3,4% Phosphor enthalten waren.

Hund Nr. 2.

Jagdhundmischling von 15 kg Gewicht. Die Alkoholversuchsperiode beginnt zur selben Zeit wie bei Hund Nr. 1, d. h. am 30. April 1907. Ihm wurden gleichfalls durch die weiche Magensonde je 100 ccm zirka 40%igen Alkohols, welcher 38,4 ccm abs. Alkohol oder 2,56 ccm pro Kilogramm Körpergewicht entsprach, täglich eingeflößt. Im Laufe eines Monats machte das also 1152 ccm abs. Alkohol aus. Im ganzen wurden dem Tiere im Laufe von 9 Monaten 8640 ccm abs. Alkohol eingeflößt. Zu Beginn des Versuches verfiel der Hund, nachdem ihm 100 ccm 40%igen Alkohols in den Magen einverleibt worden waren, sehr rasch in Schlaf, welcher ohne Unterbrechung mehrere Stunden dauerte. Sonst war an dem Hunde im Laufe des Tages nichts besonderes zu bemerken, etwa von einiger Trägheit und Appetitlosigkeit abgesehen. Gegen Ende des 7. Monates begann der Hund sich gegen die Alkoholeinverleibung zu sträuben, indem er der Einführung des Magenschlauches zuerst schwach, später aber energisch Widerstand entgegensetzte. Schließlich stellte sich nach der Alkoholeinverleibung Brechneigung ein, weshalb dem Tiere im Laufe von 2 Wochen, vom 20. Dezember 1907 bis zum 4. Januar 1908, Ruhe gegönnt werden mußte. Hierauf wurden ihm wieder dieselben Quantitäten Alkohol täglich einverleibt, wobei es dieselben nicht mehr so leicht wie im Anfang, doch aber immerhin ganz gut vertrug. Das Körpergewicht dieses Hundes fiel allmählich ab. Die Alkoholeinverleibung konnte hierauf wieder noch weitere $1^1/_2$ Monate fortgesetzt werden, dann sträubte sich der Hund wieder dagegen, so daß von neuem eine 2 Wochen dauernde Ruhepause erforderlich wurde. Sodann wurde ihm wieder Alkohol ein-

geflößt, doch bereits nach Verlauf von 2 Wochen sträubte er sich wiederum sehr energisch gegen die Sondeneinführung, außerdem stellte sich auch wieder Erbrechen ein. Deshalb wurde der Versuch unterbrochen und erst 4 Monate später das Tier durch Entblutung getötet. Die gesamte im Laufe von 10 Monaten (bei einem Monat Ruhe = 9 Monate) eingeflößte Menge 40%igen Alkohols betrug 21,600 ccm. Bei der Sektion des Hundes zeigten die Organe makroskopisch ein normales Aussehen. Die Leber war nicht groß, von normalem Blutgehalt. Beim Durchschneiden war sie etwas derber Konsistenz. Der Magen war nicht groß, von sehr derbem Aussehen. An der Schleimhaut war an zwei Stellen schwache Pigmentierung zu konstatieren. Sämtliche Organe wurden sofort zerkleinert und nach dem Trocknen mittels Ventilator wieder bei niedriger Temperatur untersucht.

Gehirn.

1. In 5,0 g = 4,78 g abs. trockenem Gehirn wurden 0,6303 g = 13,15% Phosphatide mit 0,02458 g = 3,9% Phosphor gefunden.

2. In 2,0 g = 1,91 g bis zur Gewichtskonstanz getrocknetem Gehirn fand man 0,0186 g oder 0,972% Jecorin und 0,2126 g = 11,15% Lecithin.

Lunge.

In 3,0 g = 2,73 g abs. trockener Lungensubstanz fanden sich 0,1325 g = 4,95% der Phosphatide. Phosphor nach Neumann darin zu 0,00513 g = 3,8% gefunden.

Herz.

In 3,0 g = 2,79 g der bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Herzsubstanz wurden 0,111 g oder 3,97% Phosphatide mit 0,00421 g = 3,78% Phosphor nachgewiesen.

Milz.

In 3,0 g = 2,8 g abs. trockenem Milzgewebe wurden 0,0718 g oder 2,56% Phosphatide mit 0,00312 g = 4,35% Phosphor gefunden.

Niere.

In 3,0 g = 2,79 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Niere waren 0,2021 g = 7,2% Phosphatide mit 0,00747 g = 3,70% Phosphor vorhanden.

Magenschleimhaut.

In 3,0 = 2,79 g abs. trockener Substanz sind 0,0934 g = 3,35% Phosphatide mit 0,00339 g = 3,63% Phosphor gefunden.

Magenwand.

In 3,0 g = 2,63 g getrockneter Magenwand wurden 0,0488 g = 1,8% Phosphatide gefunden.

Darmschleimhaut.

In 3,0 g = 2,76 g bis zur Gewichtskonstanz getrocknetem Gewebe wurden 0,1019 g = 3,6% Phosphatide mit 0,00366 g = 3,6% Phosphor gefunden.

Darmwand.

In 3,0 g = 2,7 g abs. trockener Substanz fand man 0,0596 g = 2,2% Phosphatide mit 0,00245 g = 4,12% Phosphor.

Blut vom Hund.

In 650 ccm Blut wurden 0,3618 g = 0,055% Lecithin mit 0,0141 g = 3,92% Phosphorgehalt gefunden.

Hund Nr. 3.

Das kräftig gebaute Tier wog 22 kg. Die Enverleibung des Alkohols per os wurde am 12. November begonnen. An diesem Tage wurden dem Tiere mit Hilfe der Schlundsonde 50 ccm 40%iger Alkohol, oder auf abs. Alkohol gerechnet, also je 0,9 ccm pro Kilogramm Körpergewicht einverleibt. Nach kurzer Zeit erbrach das Tier, wurde etwas matt und schläfrig.

Am 20. November wurde ihm dieselbe Quantität 40%igen Alkohols einverleibt und dieses Mal ertrug es dieselbe ganz gut. Des weiteren wurden dem Hunde folgende Mengen Alkohol an verschiedenen Tagen beigebracht:

Am 3. XII.	90 ccm	40%iger	Alkohol	= 36 ccm	abs.	Alkohol
„ 19. XII.	100 „	„	„	= 40 „	„	„
„ 8. I.	100 „	„	„	= 40 „	„	„
„ 15. I.	100 „	„	„	= 40 „	„	„
„ 20. I.	100 „	„	„	= 40 „	„	„
„ 28. I.	100 „	„	„	= 40 „	„	„
„ 5. II.	100 „	„	„	= 40 „	„	„
„ 11. II.	100 „	„	„	= 40 „	„	„
„ 13. II.	110 „	„	„	= 44 „	„	„

Nach dieser Zeit wird 2 Monate lang die Alkoholzuführung bei dem Hunde ausgesetzt.

Vom 10. April ab wurde von neuem dem Hunde Alkohol per os einverleibt:

Am 10. IV.	110 ccm	40%iger	Alkohol	= 44 ccm	abs.	Alkohol
„ 16. IV.	110 „	„	„	= 44 „	„	„
„ 21. IV.	120 „	„	„	= 48 „	„	„

Im ganzen waren also in 14 Portionen 1330 ccm 40%iger Alkohol = 532 ccm auf abs. Alkohol resp. pro Kilogramm Körpergewicht, im ganzen 24,1 ccm eingeführt. Daraufhin blieb das Tier noch 4 Monate lang unter denselben Verhältnissen leben, bekam aber keinen Alkohol mehr und wurde hierauf durch Entbluten getötet, bei einem Körpergewicht von 22,860 kg. Die sofort danach vorgenommene Sektion ergab makroskopisch nichts Abnormes. Die Organe dieses Hundes wurden ebenso wie in den vorhergehenden Fällen auf ihren Gehalt an Phosphatiden untersucht, nachdem sie, wie angegeben, getrocknet worden waren.

Gehirn.

1. In 5,0 g = 4,73 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Gehirnmasse wurden 0,7595 g = 15,87% Phosphatide mit 0,0315 g = 4,15% Phosphorgehalt gefunden.

2. Aus 2,0 g = 1,91 g abs. trockener Gehirnsubstanz erhielt man 0,0711 g oder 3,72% Jecorin und 0,2253 g = 11,8% Lecithin mit einem Phosphorgehalt von 0,00847 g = 3,76%.

Lunge.

1. In 3,0 g = 2,84 g getrockneter Lunge wurden 0,1627 g = 5,9% Phosphatide gefunden.

2. In anderen 3,0 g = 2,85 g abs. trockener Substanz wurden 0,1793 g = 6,3% Phosphatide mit einem Gehalt an Phosphor = 0,0064 g oder 3,56% erhalten.

Herz.

Aus 3,0 g = 2,85 g getrockneter Herzsubstanz wurden 0,1681 g = 5,9% Phosphatide mit 0,00874 g = 5,2% Phosphor darin erhalten.

Milz.

In 3,0 g = 2,81 g abs. trockenem Milzgewebe waren 0,1436 g = 5,11% Phosphatide mit 0,00588 g = 4,1% Phosphor enthalten.

Niere.

In 3,0 g = 2,71 g abs. trockenem Gewebe wurden 0,2406 g = 8,62% Phosphatide mit 0,00773 g = 3,3% Phosphor nachgewiesen.

Magenschleimhaut.

In 3,0 g = 2,76 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Substanz wurden 0,151 g = 5,46% Phosphatide nachgewiesen. Die Phosphorbestimmung ergab darin 0,00558 g = 3,7% Phosphor.

Magenwand.

In 3,0 g = 2,55 g abs. trockenem Gewebe wurde 0,0378 g = 1,4% Phosphatide mit 0,00117 g = 3,1% Phosphor gefunden.

Darmwand.

In 3,0 g = 2,65 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Darmwand waren 0,0883 g = 3,3% Phosphatide mit 0,002913 g oder 3,3% Phosphor enthalten.

Darmschleimhaut.

Aus 3,0 g = 2,65 g abs. trockener Schleimhaut wurden 0,0953 g = 3,5% Phosphatide mit 0,00352 g = 3,7% Phosphor erhalten.

Blut.

In 300 ccm Blut wurden 0,183 g = 0,061% Lecithin gefunden, welches 0,00677 g = 3,7% Phosphor enthielt.

Hund Nr. 4. Normales Tier.

Jagdhundmischling von 14,85 kg Gewicht. Normaler Hund, der unter den gleichen Bedingungen lebte, wie die Hunde 1 und 2, für die er als Kontrolltier diente. Am 21. I. 08 wurde er durch Entblutung getötet. Die sofort vorgenommene Sektion ergab normales Verhalten.

Gehirn.

1. In 2,0 g = 1,9 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Gehirnsubstanz wurde 0,0431 g = 2,2% Jecorin und 0,4642 g = 26,07% Lecithin gefunden.

2. In 5,0 g = 4,77 g abs. trockenen Gehirns wurden 1,3623 g = 28,56% Phosphatide mit 0,0504 g Phosphor = 3,7% gefunden.

Lunge.

In 3,0 g = 2,82 g bis zum konstanten Gewicht getrockneter Lunge wurden 0,220 g = 7,81% Phosphatide mit 0,00793 g = 3,6% Phosphor gefunden.

Herz.

In 3,0 g = 2,75 g abs. trockenen Herzgewebes waren 0,1949 g oder 7,09% Phosphatide mit 0,0640 g = 3,8% Phosphor enthalten.

Milz.

Aus 3,0 g = 2,66 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Milz wurden 0,1546 g = 5,8% Phosphatide mit 0,007111 g = 4,6% Phosphor erhalten.

Niere.

In 3,0 g = 2,67 g abs. trockenen Nierengewebes wurden 0,138 g = 5,16% Phosphatide mit 0,00593 g = 4,3% Phosphor gefunden.

Magenschleimhaut.

Aus 3,0 g = 2,75 g konst. getrockn. Magenschleimhaut wurde 0,2438 g oder 8,36% Phosphatide mit 0,00853 g = 3,5% Phosphor erhalten.

Magenwand.

In 3,0 g oder 2,77 g konst. getrockneter Magenwand wurden 0,0793 g = 2,80% Phosphatide mit 0,00333 g = 4,2% Phosphor gefunden.

Darmschleimhaut.

In 3,0 g = 2,77 g getrockneter Darmschleimhaut wurden 0,2187 g = 7,4% Phosphatide gefunden, welche 0,00866 g = 4,1% Phosphor enthielten.

Darmwand.

Aus 3,0 g = 2,67 g abs. trockener Darmwand wurden 0,1194 g = 4,11% Phosphatide mit 0,00525 g = 4,4% Phosphor erhalten.

Blut.

In 300 ccm Blut wurden 0,417 g = 0,139% Lecithin gefunden, das 0,001709 g = 4,1% Phosphor enthielt.

Hund Nr. 5. Normales Tier.

Normaler, gesunder Hund von 18,2 kg Körpergewicht lebte unter gleichen Bedingungen wie die Alkoholhunde. Die nach dem durch Verblutung hervorgerufenen Tode vorgenommene Sektion ergab einen normalen Organbefund.

Gehirn.

1. In 5,0 g = 4,79 g bis zum konstanten Gewicht getrockneten Gehirns waren 1,4144 g = 29,53% Phosphatide mit 0,001869 g = 4,15% Phosphor enthalten.

2. In 2,0 g = 1,90 g getrockneter Gehirnmasse wurden 0,071 g = 3,73% Jecorin und 0,49 g = 25,7% Lecithin gefunden.

Lunge.

In 3,0 g = 2,75 g abs. trockener Lunge wurden 0,1942 g = 7,18% Phosphatide mit 0,00739 g = 3,8% Phosphor gefunden.

Tabelle I.

%-Gehalt der Organe normaler und mit Alkohol gefütterter Hunde an Phosphatiden.

	Menge des eingeführten Alkohols	Gehirn	Herz	Lunge	Milz	Niere	Magenschleimhaut	Darmschleimhaut	Magenwand	Darmwand	Blut	Leber
1. Hund	40% Alkohol 10 L. 800 ccm oder 4 L. 320 ccm abs. Alkohol	20,0	4,17	6,58	3,5	5,81	3,83	5,15	2,39	2,5	0,0689	3,96
2. Hund	40% Alkohol 21 L. 600 ccm oder 8 L. 640 ccm abs. Alkohol	13,15	3,97	4,95	2,56	7,2	3,35	3,6	1,8	2,2	0,055	3,9
3. Hund	40% Alkohol 1330 ccm od. 532 ccm abs. Alkohol	15,87	5,9	5,9	5,11	8,62	5,46	3,5	1,4	3,3	0,061	6,7
% Gehalt der Phosphatide im Mittel		16,34	4,64	5,81	3,72	7,21	4,21	4,08	1,86	2,66	0,061	4,58
4. Hund	Normale Hunde, welche keinen Alkohol erhalten haben	28,56	7,09	7,81	5,8	5,16	8,86	7,4	2,8	4,11	0,139	8,4
5. Hund		29,53	7,22	7,18	6,81	7,1	8,64	7,75	1,9	3,06	0,149	7,3
6. Hund		25,2	7,17	6,58	8,1	6,85	7,58	6,94	2,59	4,11	0,152	7,5
% Gehalt an Phosphatiden im Mittel		27,76	7,16	7,15	6,09	6,37	8,36	7,3	2,43	3,76	0,146	7,33
Differenz im Gehalt an Phosphatiden in % bei normalen und mit Alkohol behandelten Tieren . .		− 11,41	− 2,52	− 1,34	− 3,18	+ 0,84	− 4,15	− 3,22	− 0,57	− 1,10	− 0,085	− 2,74

Tabelle II.

P-Gehalt der Phosphatide in %.

	Menge des eingeführten Alkohols	Gehirn	Herz	Lunge	Milz	Niere	Magen-schleim-haut	Darm-schleim-haut	Magen-wand	Darm-wand	Blut	Leber
1. Hund	40% Alkohol 10 L. 800 ccm entsprechend 4 L. 320 ccm abs. Alkohol	3,9	4,37	4,08	3 19	3,8	3,2	3,0	3,0		3,6	4,1
2. Hund	40% Alkohol 21 L. 600 ccm entspr. 8 L. 640 ccm abs. Alkohol	3,9	3,74	3,8	4,35	3,7	3,63	3,6		4,12	3,92	4,08
3. Hund	40% Alkohol 1330 ccm entsprechend 532 ccm abs. Alkohol	3,76	5,2	3,56	4,1	3,3	3,7	3,7	3,1	3,3	3,7	4,04
4. Hund	Normale Hunde, welche keinen Alkohol erhalten haben	3,7	3,8	3,6	4,6	4,3	3,5	4,1	4,2	4,4	4,1	3,83
5. Hund		4,15	4,4	3,8	4,2	3,9	3,2	5,0	4,5	4,8	3,92	3,93
6. Hund		3,9	4,37	4,8	3,19	3,7	3,7	4,3	3,5	4,1	3,85	3,9

Herz.

In 3,0 g = 2,70 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Herzsubstanz wurden 0,1944 g = 7,22% Phosphatide gefunden, welche 0,008553 g = 4,4% Phosphor enthielten.

Milz.

In 3,0 g = 2,57 g konst. getrocknet. Milzsubstanz wurden 0,175 g = 6,71% Phosphatide mit 0,00735 g = 4,2% Phosphor gefunden.

Niere.

In 3,0 g = 2,73 g konst. getrocknet. Nieren wurden 0,1975 g = 7,1% Phosphatide gefunden, welche 0,0077 g = 3,9% Phosphor enthielten.

Magenschleimhaut.

Aus 3,0 g = 2,74 g konst. getrockn. Magenschleimhaut wurden 0,2299 g = 8,64% Phosphatide mit 0,00735 g = 3,2% Phosphor erhalten.

Magenwand.

Aus 3,0 g = 2,64 g konst. getrockn. Magenwand wurden 0,0522 g oder 1,9% Phosphatide mit 0,00234 g = 4,5% Phosphor erhalten.

Darmschleimhaut.

In 3,0 g = 2,64 g getrockneter Darmschleimhaut waren 0,2046 g = 7,75% Phosphatide mit 0,01023 g = 5% Phosphor enthalten.

Darmwand.

In 3,0 g = 2,64 g zum konstanten Gewicht getrockneter Darmwand wurden 0,0808 g = 3,06% Phosphatide mit 0,003878 g = 4,8% Phosphor ermittelt.

Blut.

Aus 300 ccm Blut wurden 0,447 g = 0,149% Phosphatide mit 0,0175 g = 3,92% Phosphor erhalten.

Hund Nr. 6. Normales Tier.

Gesunder Hund von 18,95 kg Körpergewicht diente als Kontrolle zu dem Hunde Nr. 3; er wurde zu gleicher Zeit durch Entblutung mit dem letzteren getötet. Die Sektion ergab normale innere Organe.

Gehirn.

1. In 5,0 g = 4,7 g konst. getrockn. Gehirns wurden 1,185 g = 25.2% Phosphatide mit 0,0452 g = 3,9% Phosphor ermittelt.

2. In 2,0 g = 1,78 g trockenen Gehirns wurde 0,0622 g = 3,49% Jecorin und 0,3866 g = 21,71% Lecithin gefunden.

Lunge.

In 3,0 g = 2,75 g getrockneter Substanz waren 0,1812 g = 6,58% Phosphatide mit 0,0688 g = 3,8% Phosphor enthalten.

Herz.

In 3,0 g = 2,85 g bis zur Gewichtskonstanz getrockneter Herzsubstanz wurden 0,2046 g = 7,17% Phosphatide mit 0,00894 g = 4,37% Phosphor ermittelt.

Milz.

In 3,0 g = 2,87 g konstant getrockneter Milzsubstanz wurde 0,168 g = 8,1% Phosphatide mit 0,00539 g = 3,19% Phosphor gefunden.

Niere.

In 3,0 g = 2,75 g konst. getrockneter Nierengewebe waren 0,1833 g = 6,85% Phosphatide mit 0,006967 g = 3,7% Phosphor enthalten.

Magenschleimhaut.

Aus 2,0 g = 1,83 g getrockneter Magenschleimhaut wurden 0,1387 g = 7,58% Phosphatide mit 0,00513 g = 3,7% Phosphor erhalten.

Magenwand.

Aus 3,0 g = 2,7 g konst. getrockneter Magenwand wurden 0,06993 g = 2,59% Phosphatide mit 0,002447 g = 3,5% Phosphor erhalten.

Darmschleimhaut.

Aus 3,0 g = 2,75 g getrockneter Darmwand wurden 0,1877 g = 6,94% Phosphatide mit 0,0085 g = 4,3% Phosphor erhalten.

Darmwand.

Aus 3,0 g = 2,75 g wurden 0,113 g = 4,11% Phosphatide mit 0,00463 g = 4,1% Phosphor erhalten.

Blut.

In 500 ccm Blut wurden 0,76 g = 0,152% Lecithin mit 0,00392 g = 3,85% Phosphor ermittelt.

Da die Versuche noch nicht abgeschlossen sind, so will ich die allgemeine Kritik und Schlußfolgerungen aus den Resultaten über den Alkoholeinfluß bis zur nächsten Mitteilung verschieben; hier führe ich nur den Gehalt an Phosphatiden (resp. Lecithin) in den Organen und im Blute der 3 normalen und 2 Alkoholversuchstiere an.

Aus Tabelle I geht ein Phosphatid- und Lecithinverlust der mit Alkohol gefütterten Hunde deutlich hervor. Weiter ist zu ersehen, daß der Alkoholeinfluß auf den Phosphatid- und Lecithingehalt in verschiedenen Organen ein verschiedener ist. Angeführt sind die Mittelzahlen von normalen und von den Versuchstieren. Folgende Tabelle demonstriert den mittleren prozentischen Verlust an Phosphatiden in verschiedenen Organen.

Die Verminderung des Phosphatidgehaltes betrug:

Im Gehirn	11%
In der Magenschleimhaut .	4,15%
„ „ Darmschleimhaut .	3,22%
„ „ Milz	3,18%
„ „ Leber	2,74%
Im Herzen	2,52%
In der Lunge	1,34%
„ „ Darmwand	1,10%
„ „ Magenwand	0,57%

Über polarimetrisch meßbare Zuckerzerstörungen in physiologischen Flüssigkeiten.

Von

A. J. J. Vandevelde, Gent.

(Eingegangen am 2. Dezember 1909.)

In früher mitgeteilten Untersuchungen[1]) habe ich feststellen können, daß in der rohen, aseptisch[2]) aufbewahrten Kuhmilch der Milchzucker ohne Bildung flüchtiger Substanzen oder Erhöhung der Säuremengen sich in polarimetrisch meßbarer Weise verändert; das Reduktionsvermögen und die erhältliche Osazonmenge nehmen dabei kaum ab. Die gefundenen Werte der Polarisation und Reduktion stimmen mit einer Inversion zu d-Glucose und d-Galaktose nicht überein.

Im Laufe der von mir neu ausgeführten Untersuchungen, die eine theoretische Erklärung dieser Erscheinungen bezweckten, habe ich ähnliche Zerstörungen nicht allein mit Milchzucker, sondern auch mit anderen Kohlenhydraten konstatiert, über welche ich hier berichte. Wie früher wurden die untersuchten Flüssigkeiten mit 10 Vol.-% einer Auflösung 3%igen Jodoforms in Dimethylketon[3]) versetzt; diese Mischungen wurden dann in gut mit Kork verschlossenen Flaschen bei 37,5° C aufbewahrt.

A. Milchzucker mit Organextrakten.

Es wurden Organextrakte aus Leber und Pankreas bereitet; diese ganz frischen Drüsen vom Schwein wurden mit Seesand und einer 0,9%igen Chlornatriumlösung zu einem flüssigen Brei zerrieben und mit dieser Lösung zu einem Volum von 300 ccm aufgefällt.

---

[1]) Über Milchzucker zerstörende Enzyme in der Milch. Diese Zeitschr. 11, 61, 1908.

[2]) Unter Anwendung von einer Lösung von Jodoform in Aceton.

[3]) Über die Anwendung von Antiseptiken bei Untersuchungen über Enzyme. Diese Zeitschr. 3, 315, 1907.

100 ccm dieser Extrakte oder 100 ccm Wasser (Kontrolle) wurden mit 400 ccm einer Lactoselösung, die 30 g Lactose enthielt, gemischt. Für die Proben wurden 50 ccm der Mischungen mit 25 ccm 10%igem essigsaurem Blei behandelt, und 1. für die Polarisation dann 50 ccm mit 10 ccm einer gesättigten Natriumsulfatlösung versetzt und nach der Filtration in einem 2 dcm-Rohre des Laurentschen Polarimeters untersucht; die Ergebnisse sind in Graden und Minuten angegeben; 2. für die Reduktion wurden die überbleibenden 25 ccm mit 8,3 ccm einer gesättigten Natriumsulfatlösung versetzt und 5 ccm des Filtrates zu 50 ccm kochender Fehlingscher Mischung gefügt; die niedergeschlagenen Kupferoxydulmengen sind gravimetrisch bestimmt und in Gr. Kupfer für die 5 benutzten Kubikzentimeter ausgedrückt.

	Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
Leberextrakt	0	+ 3° 26′	0,204 g
„	405	+ 3° 22′	0,209 g
Pankreasextrakt	0	+ 3° 22′	0,191 g
„	405	+ 3° 18′	0,186 g
Ohne Extrakt	0	+ 3° 28′	0,184 g
„	405	+ 3° 18′	0,190 g

Aus diesen Zahlen läßt sich schließen, daß der Milchzucker durch Leber- und Pankreasextrakt nicht zersetzt wird, und daß die früher bei der Milch beobachteten Änderungen für diese Flüssigkeit spezifisch sind. Auch ist die Hypothese ausgeschlossen, daß die Zersetzung unter dem Einfluß von Enzymen aus den toten Leibern von Bakterien erfolge, die vor dem Zusatz der antiseptischen Jodoformlösung in den Flüssigkeiten vorhanden gewesen wären; denn wenn Bakterienleiber in der Milch vorhanden sind, warum sollten sie nur dort und nicht auch in den benutzten Organextrakten wirksam sein?

B. Saccharose mit Organextrakten.

Die Probe wurde auf dieselbe Weise wie bei A ausgeführt; nur wurden 30 g Saccharose an Stelle der Lactose benutzt.

	Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
Leberextrakt	0	+ 4° 8′	0,008 g
„	405	+ 12′	0,208 g
Pankreasextrakt	0	+ 4° 9′	0
„	405	+ 1° 20′	0,266 g
Ohne Extrakt	0	+ 4° 8′	0
„	405	0	0,212 g

Wie bekannt, wird die Saccharose zu Invertzucker umgesetzt; in dem Leberextrakt ist die Wirkung wie bei der Kontrolle; in dem Pankreasextrakt ist die Inversion sehr beschleunigt.

C. Glucose mit Organextrakten.

Dieselben Bedingungen wie bei A, aber mit 30 g Glucose.

	Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
Leberextrakt	0	+ 3° 25′	0,260 g
„	405	+ 3° 22′	0,266 g
Pankreasextrakt	0	+ 3° 20′	0,264 g
„	405	+ 3° 13′	0,268 g
Ohne Extrakt	0	+ 3° 24′	0,255 g
„	405	+ 3° 18′	0,258 g

Die Polarisations- und Reduktionswerte bleiben demnach unverändert.

D. Lactose in normalem Harn.

Der Harn wurde mit Milchzucker versetzt, und zwar mit 5 g für je 100 ccm. Es wurden 5 ccm Flüssigkeit mit 25 ccm einer 10%igen Bleiacetatlösung versetzt: 1. 50 ccm dieser Mischung dienten für die Polarisationsprobe im 2 dcm-Rohr; 2. die übrigen 25 ccm wurden mit 8,3 ccm gesättigter Natriumsulfatlösung versetzt und 5 ccm des Filtrates wurden mit 50 ccm kochender Fehlingscher Lösung gemischt. Die Daten sind für die Polarisation in Graden und Minuten des Laurentschen Saccharometers, für die Reduktion in Gramm Kupfer wiedergegeben, die als Kupferoxydul mit 5 ccm Filtrat niedergeschlagen wurden.

Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
0	+ 3° 2′	0,143 g
283	+ 2° 55′	0,156 g
478	+ 2° 41′	0,145 g

Bei geringer Abnahme der Polarisation bleibt die Reduktion nahezu unverändert.

E. Glucose in normalem Harn.

Dieselben Bedingungen wie in D, nur mit Glucose an Stelle der Lactose; es wurde eine Verminderung der Polarisationswerte beobachtet; die Reduktionswerte blieben unverändert.

Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
0	+ 2° 59′	0,209 g
283	+ 2° 42′	0,210 g
478	+ 2° 20′	0,199 g

F. G. H. Glucose enthaltender Harn.

Dieselben Beobachtungen wie mit normalem, mit Glucose versetztem Harn ließen sich auch an Harn von Diabetikern machen.

F. Diabetes und Albuminurie.

Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
0	$+1^{\circ}1'$	0,082 g
300	$+59'$	0,086 g
420	$+56'$	0,088 g

G. Diabetes.

Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
0	$+2^{\circ}10'$	0,155 g
285	$+2^{\circ}10'$	0,157 g
405	$+1^{\circ}27'$	0,160 g

H. Diabetes; infolge einer Behandlung mit Hefe war die Glucose verschwunden, und es wurden zu 100 g dieses Harnes 3,2 g Glucose gesetzt:

Nach Tagen	Polarisation	Reduktion
0	$+2^{\circ}45'$	0,150 g
285	$+1^{\circ}44'$	0,145 g

Für Milchzucker wurde demnach eine Abnahme des Drehungsvermögens bei roher Milch und bei Harn beobachtet; bei letzterem sind die Verminderungen klein. Mit den Organextrakten von Leber und Pankreas wurden keine auffallenden Änderungen beobachtet. Die Reduktionswerte blieben in engen Grenzen dieselben.

Wie bekannt, ist Milchzucker rechtsdrehend ($\alpha_D = +52^{\circ}3$), wie auch die normalen Inversionsprodukte, Invertmilchzucker ($\alpha_D = +68^{\circ}3$), d-Glucose ($\alpha_D = +52^{\circ}$) und d-Galaktose ($\alpha_D = +83^{\circ}$). Die Reduktionswerte sind für 0,1 g Milchzucker, resp. Invertmilchzucker 0,138 g und 0,305 g Kupfer.

Die Inversion des Milchzuckers erfolgt nicht leicht; nach J. Shimidzu[1]) kann man sie durch Erwärmen von 0,25 bis 1,0 g Milchzucker mit 100 ccm $10^{0}/_{0}$iger Schwefelsäure oder $5^{0}/_{0}$iger Salzsäure auf 100° herbeiführen. Erwärmt man eine $5^{0}/_{0}$ige

[1]) J. Shimidzu, Über die quantitative Bestimmung des Milchzuckers mittels ammoniakalischer Kupferlösung. Diese Zeitschr. 13, 243, 1908.

Auflösung von Milchzucker, um Birotation zu vermeiden, so ist die Polarisation nach 24 Stunden (im Laurentschen Polarimeter und 2 dcm-Rohr) $+5^0 4'$, und es reduzieren 5 ccm davon 0,315 g Kupfer. Wurde nun wie für Rohrzucker invertiert, so zeigt die Milchzuckerlösung im 22 dcm-Rohre eine Drehung $= +5^0 12'$, und es reduzierten 5,5 ccm 0,317 g Kupfer.

Nach H. Bierry und J. Giaja[1]) wird Milchzucker von einer Lactase aus dem Darmextrakt des Kuhfoetus und der Helix pomatia sehr stark und schnell unter Bildung von Galaktose hydrolisiert. Zu einer solchen enzymatischen Umsetzung stimmen meine Beobachtungen nicht.

Aus meinen früheren Untersuchungen über Milch könnte man vielleicht schließen, daß die Verminderung der Drehung eine Folge der Entstehung von links drehenden, bei der Autolyse gebildeten Produkten sei, welche mit Bleizucker nicht entfernt werden. Hierzu kann ich mitteilen, daß eine $4^0/_0$ige Wittepeptonauflösung kein Drehungsvermögen besitzt; wird Milch, welche normal eine Ablenkung von $+2^0 44'$ zeigt, mit 10 ccm starker Salzsäure für je 25 ccm Milch 1 Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, so findet man unter denselben Bedingungen der Verdünnung, des Ausfällens mit Bleizucker usw., dieselbe Polarisation $+2^0 50'$. Daraus läßt sich der Schluß ziehen, daß keine Autolysenprodukte die Polarisation beeinflussen können.

Bei der Untersuchung mit Saccharose wird dieser Zucker mit und ohne Extrakte invertiert, und es üben die Extrakte keinen merklichen Einfluß aus.

Für Glucose werden polarimetrisch meßbare Zerstörungen im Harne konstatiert, dagegen nicht mit den Organextrakten; die Reduktionswerte wurden in den verschiedenen Untersuchungen ähnlich gefunden.

---

[1]) Sur le dédoublement diastatique du lactose, du maltose et de leurs derivés. Compt. rend. Soc. biol. 64, 653 bis 654, 1908.

Experimentelle Untersuchungen über den Phlorizindiabetes. I.

Von

A. Erlandsen, Kopenhagen.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institute der Universität Lund.)

(Eingegangen am 1. Dezember 1909.)

Mit 3 Figuren im Text.

Unter den experimentell erregten Diabetesformen, die man zu dem Zwecke studiert hat, die Ätiologie der pathologischen Glucosurien des Menschen ins Klare zu bringen, nimmt der Phlorizindiabetes bekanntlich eine Sonderstellung ein. Während die anderen experimentellen Glucosurien durch die Zunahme der Blutzuckerkonzentration bedingt sind, die wieder zu einem gesteigerten Glykogenumsatz in der Leber in Beziehung steht, wird über die Blutzuckermenge bei der Phlorizinvergiftung angegeben, bald daß sie normal oder subnormal, bald daß sie vermehrt ist. Die Ansichten über den Mechanismus der Phlorizinglucosurie widerstreiten sich deshalb in hohem Grade. Da es nun für die Beurteilung der Rolle der Nieren bei den chronischen Glucosurien, speziell indes als experimentelle Grundlage für die Annahme eines „Nierendiabetes", von größtem Interesse ist, den Mechanismus der Phlorizinglucosurie aufzuklären, sind neue Untersuchungen erforderlich.

Die stark divergierenden Anschauungen von dem Mechanismus der Phlorizinglucosurie lassen sich unter folgende vier Theorien einordnen:

1. Die „Eliminationstheorie".
2. Die „Vehikeltheorie".
3. Die Theorie von der primären, extrarenalen Zuckerproduktion.

4. Die Theorie von der primären, renalen Zuckerproduktion.

1. Die „Eliminationstheorie".

Diese von v. Mering aufgestellte Theorie findet eine Stütze an den Untersuchungen von Cremer, Zuntz und Lewandowski. Derselben zufolge rührt die Phlorizinglucosurie von einer gesteigerten Durchlässigkeit der Nieren für Zucker her, indem die Zuckerausscheidung bei normaler (oder subnormaler) Blutzuckerkonzentration geschieht.

v. Mering[1]) wies zuerst Glucosurie nach Injektion von Phlorizin nach. Außerdem zeigte er, daß auch das Spaltungsprodukt Phloretin die Glucosurie erregt, so daß diese nicht von der Ausscheidung des Zuckergehaltes des Phlorizins allein herrühren kann. Die Untersuchung der Blutzuckermenge bei Hunden 12 bis 18 Stunden nach Phlorizininjektion ergab keine Zunahme (3 Versuche). Ferner wies v. Mering nach, daß die Glucosurie entsteht, selbst wenn man die Leber exstirpiert oder unterbindet (bei Gänsen). Cremer und Ritter[2]) bestätigten v. Merings Angaben, indem sie nachwiesen, daß Phlorizininjektion bei Kaninchen eine starke Zuckerausscheidung (> 4 g Glucose) hervorrief, und daß die Zuckerausscheidung gleichzeitig mit der Phlorizinausscheidung aufhörte. Durch polarimetrische Bestimmung konnten sie das Phlorizin fast quantitativ im Harne wiederfinden.[3]) Minkowski[4]) bestätigte v. Merings Angabe, daß die Blutzuckerkonzentration nicht zugenommen habe, sondern im Gegenteil abnorm niedrig sei. Ferner teilt er mit, daß 3 pankreasdiabetische Hunde nach Phlorizininjektion stärkere Zuckerausscheidung bekamen. Endlich fand er, daß nach Exstirpation der Niere während der Phlorizinvergiftung allerdings eine geringe Zunahme des Blutzuckers erschien, daß diese aber die Grenze des Normalen nicht überstieg. Minkowski schließt hieraus, daß die Phlorizinglucosurie einer primären Einwirkung auf die Nieren zu verdanken sei (siehe übrigens unten). Zuntz[5]) suchte die renale Herkunft der Glucosurie dadurch festzustellen, daß er die Phlorizinwirkung auf die eine der Nieren lokalisierte. Zu diesem Zwecke injizierte er 1 bis 5 ccm 0,5%ige Phlorizinlösung in die eine Nierenarterie und fing den Harn aus beiden Nieren mittels eingelegter Ureterkanülen auf. Er wies nun eine schnelle Zunahme der Diurese an der injizierten Seite nach, wo schon 1 bis 2 Minuten nach der Injektion Zucker im Harn auftritt. Erst ein paar Minuten später kommt zuckerhaltiger Harn aus der anderen Seite und die Glu-

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. 1888, 405; 1889, 431.

[2]) Zeitschr. f. Biol. 1891, 459.

[3]) Vgl. Jokata, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 313.

[4]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. 1893, 85.

[5]) Dubois-Reymonds Archiv 1895, 570.

cosurie bleibt hier während der ersten halben Stunde wesentlich geringer als an der injizierten Seite. Sogar bei subnormalen Blutzuckerwerten gehen große Zuckermengen in den Harn über. Zuntz nimmt deshalb an, daß die Anziehungskraft der Nierenepithelien auf Zucker während der Phlorizinvergiftung zugenommen habe und daß der Blutzucker sich mittels einer Art Regulation fortwährend erneuere. Der interessante Versuch stützt v. Merings Ansicht, es lassen sich aber Einwände gegen denselben erheben. Erstens erzeugt man durch Injektion einer gewissen Menge Flüssigkeit verschiedene Sekretionsbedingungen in den beiden Nieren. Zweitens muß (vgl. Cremer) schon die gesteigerte Diurese an der injizierten Seite schneller zuckerhaltigen Harn durch den Ureter führen als an der anderen Seite. Weniger begründet ist dagegen Pflügers[1]) Einwurf, daß das Phlorizin sich schon im Blute spalte, und daß darauf der abgespaltene Zucker in der injizierten Niere ausgeschieden werde.

Lewandowski[2]) gelangt auch zu dem Ergebnisse (3 Versuche), daß die Blutzuckermenge nach der Phlorizininjektion nicht zunimmt. Da zwei der Bestimmungen (NB. Seegens Methode) subnormale Werte ergaben, meint er, die Blutzuckermenge werde herabgesetzt. Nach beiderseitiger Nierenexstirpation und darauffolgender Phlorizininjektion findet er keine Hyperglykämie.

2. Die „Vehikeltheorie".

Mit diesem Namen bezeichnet man gewöhnlich Minkowskis[3]) Hypothese von der Wirkungsart des Phlorizins: Das Phlorizin spaltet sich in den Nieren in Phloretin und Phlorose (Glucose). Die Glucose wird ausgeschieden, während das Phloretin wieder mit dem Zucker des Blutes sich paart, worauf das neugebildete Phlorizin sich aufs neue in den Nieren spaltet usw.

Minkowski stand wesentlich auf derselben experimentellen Grundlage wie v. Mering, als er — mit großem Vorbehalt — diese Hypothese aufstellte. Für die Richtigkeit derselben führte er keinen Anhaltspunkt an und sie ist denn auch stark angefochten worden, teils wegen der Schwierigkeit, die gewaltige Zuckerausscheidung nach kleinen Phlorizindosen zu erklären, teils weil man nachgewiesen hat, daß das Phlorizin unverändert ausgeschieden wird. Wäre die Hypothese richtig, so müßten das Phlorizin und das Phloretin außerdem in gleicher Weise wirken, indem letzteres sich sofort mit dem Zucker des Organismus paaren müßte. Ich werde unten zu zeigen versuchen, daß dies nicht der Fall ist.

---

[1]) Pflügers Archiv 96, 385, 1903.

[2]) Dubois-Reymonds Archiv 1901, 365.

[3]) l. c.

3. Die Theorie von der primären extrarenalen Zuckerproduktion.

Diejenigen Autoren, die den Angriffspunkt des Phlorizins an einen Ort außerhalb der Niere verlegen, sind sich keineswegs darüber einig, wo und wie dasselbe wirkt. Einige (Coolen, Biedl und Kolisch) halten es für am wahrscheinlichsten, daß die Phlorizinglucosurie wie alle anderen experimentellen Glucosurien von einer primären Zuckerproduktion in der Leber nebst nachfolgender Hyperglykämie herrühre. Andere (Pflüger, Lépine u. a. m.) glauben, daß die Glucosurie einer primären hämatogenen Zuckerproduktion zu verdanken sei, indem das Phlorizin einen Teil des „gebundenen" Zuckers des Blutes befreie und hierdurch die Passage des Zuckers durch die Nieren bedinge.

Wenn Coolen[1]) die renale Herkunft der Phlorizinglucosurie bestreitet, hat dies seinen Grund teils darin, daß er bei Kaninchen 6 Stunden nach Phlorizininjektion Hyperglykämie (0,16 bis 0,25%) findet, teils darin, daß er starke Zunahme des Blutzuckers (0,28 bis 0,35%) erhält, wenn die Nieren während der Phlorizinvergiftung exstirpiert werden. Er unternahm indes nur wenige Versuche und die Blutzuckerbestimmungen fanden nach Seegens Methode statt. Auch berücksichtigte er nicht, daß eine Exstirpation der Nieren ohne Phlorizininjektion Hyperglykämie erzeugt (Minkowski, Rose[2]).

Biedl und Kolisch[3]) konnten ebenfalls kurz nach Beginn der Phlorizinglucosurie eine deutliche Steigerung der Blutzuckerkonzentration nachweisen. Da sie außerdem fanden, daß das Nierenvenenblut häufig reicher an Zucker war als das Arterienblut, und daß das Lebervenenblut nach Phlorizininjektion vermehrten Zuckergehalt zeigte, hielten sie sich für berechtigt, die Theorien von gesteigerter Durchlässigkeit oder Sekretion der Niere zu verwerfen. Da ein genauer Bericht über die Versuche nicht vorliegt, ist es unmöglich, anzugeben, in wie vielen derselben die Hyperglykämie von vorhergehendem Aderlaß herrührt. In dem zitierten Kaninchenversuche hat der Aderlaß sicherlich eine Rolle gespielt. Die anderen Versuche wurden teils an curarisierten oder chloroformierten, teils an nicht narkotisierten Tieren unternommen. Es wird behauptet, dies sei ohne Einfluß auf die Versuchsresultate, bewiesen wird es aber nicht. Ebensowenig finden sich Aufschlüsse darüber, wie die Verfasser bei der Untersuchung des Lebervenenblutes und des Nierenvenenblutes die großen Versuchsfehler zu vermeiden vermochten, welche die Sperrung

[1]) Arch. internat. de Pharmakodynamie **1**, 267, 1894.
[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **50**, 15.
[3]) Verhdl. d. XVIII. Kongr. f. inn. Med. 1900, 573.

der Gefäße (Stase) herbeiführt. Diese Verhältnisse, wie auch die Mängel der angewandten Methode zur Blutzuckerbestimmung schwächen die Beweiskraft dieser Versuche in hohem Grade ab.

Die Frage von der Fähigkeit des Phlorizins, durch Befreiung der gebundenen Kohlenhydratmoleküle des Blutes eine Glucosurie zu erregen, entstand, nachdem Otto[1]) das Vorhandensein von nicht vergärenden, reduzierenden Substanzen im Blute nachgewiesen hatte. Als die Untersuchungen von Henriques[2]) und H. S. Bing[3]) es zur Wahrscheinlichkeit erhoben hatten, daß der Zucker des Blutes zum Teil in jecorinähnlichen Verbindungen gebunden ist, legte man (Pflüger[4]) dem Phlorizin die Fähigkeit bei, auf das „Jecorin" dissoziierend zu wirken und hierdurch den Nieren den Zucker zur Verfügung zu stellen. Nachdem Bing indes nachgewiesen hat, daß die Beziehungen der „freien Glucose" des Blutes zum „Jecorin" sich während der Phlorizinvergiftung nicht ändern, welche Untersuchungen bisher von anderer Seite nicht entkräftet worden sind, hat diese Hypothese keine experimentelle Grundlage. Dasselbe gilt von der von Lépine[5]) und dessen Mitarbeitern aufgestellten Theorie. Diese Forscher meinen, das Phlorizin bedinge mittels eines Fermentes eine Befreiung des gebundenen Blutzuckers („sucre virtuel") und somit eine Zuckerausscheidung. Ohne mich auf Lépines Untersuchungen näher einzulassen, muß ich doch hervorheben, daß er keinen Beweis dafür geliefert hat, daß das Phlorizin eine Verschiebung der Beziehung des „freien" zum „gebundenen" Zucker des Blutes bewirken sollte.

Überdies ist es in der jüngsten Zeit, namentlich durch Arbeiten von Michaelis und Rona[6]) wahrscheinlich gemacht worden, daß der Zucker frei im Blute vorkommt.

4. Die Theorie von der primären renalen Zuckerproduktion.

Diese zuerst von Levene aufgestellte und von Pavy, Brodie und Siau weiter entwickelte Theorie behauptet, daß die Phlorizinglucosurie von einer renalen Zuckerproduktion herrühre und bestreitet, daß der ausgeschiedene Zucker aus dem Zuckerinhalt des Blutes stammen sollte.

Levene[7]) fand bei Hunden keine Hyperglykämie nach Phlorizininjektion. Er gibt an, daß der Zuckergehalt des Blutes während der Vergiftung bei der Passage durch die Niere zunehme, und daß die Niere mehr Zucker als normal enthalte. Gegen seine Versuche sind indes ernst-

[1]) Pflügers Archiv 35, 467, 1885.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 23, 244, 1897.

[3]) Untersuchungen über reduzierende Substanzen im Blute. Habilitierungsschrift. Kopenhagen 1899.

[4]) l. c. S. 385.

[5]) Le diabète sucré. Paris 1909.

[6]) Diese Zeitschr. 14, 476.

[7]) Journ. of Physiol. 17, 259, 1894.

liche Einwürfe zu erheben. Die zur Blutzuckerbestimmung angewandte Methode ergab abnorm hohe Normalwerte (z. B. 0,17% und 0,21%), die Blutzuckerbestimmungen wurden einen bis mehrere Tage nach der Phlorizininjektion, die Nierenblutuntersuchungen ebenfalls 1 bis 3 Tage nach der Injektion angestellt, zum Teil also, nachdem die Vergiftung aufgehört hatte. Die gefundenen Steigerungen des Blutzuckergehalts des Nierenblutes liegen wohl kaum außerhalb der Fehlergrenze (nur in 2 von 9 Fällen betrug die Steigerung 0,02%), namentlich wenn man die während der Passage durch die Nieren vermehrte Konzentration des Blutes wie auch die Fehler berücksichtigt, welche die Sperrung der Nierengefäße und andere Manipulationen bewirkt haben können. Endlich kann es kein Beweis für eine Zuckerproduktion in den Nieren sein (vgl. Zuntz[1]), daß sich während der Glucosurie 1,6 bis 3,4 cg Zucker mehr als normal in der Niere vorfinden; die Nierenkanälchen sind ja mit stark zuckerhaltigem Harn angefüllt.

Pavy, Brodie und Siau[2]) meinen, indem sie sich auf Pavys frühere Untersuchungen stützen,[3]) daß die Phlorizininjektion eine Hyperglykämie errege, schließen sich aber, nachdem sie Zuntz' Versuche bestätigt haben, der Auffassung an, daß der Angriffsort des Phlorizins in den Nieren liege. Mittels einer kleinen Anzahl Perfusionsversuche an herausgeschnittenen Nieren glauben sie nachweisen zu können, daß die Niere während des Versuches Zucker produziert habe. Infolgedessen stellen sie die Theorie auf, die sezernierenden Zellen der Niere produzierten unter Einwirkung des Phlorizins Glucose, ebenso wie die Zellen der Milchdrüse unter Einwirkung irgendeiner mit dem Blute zugeführten Substanz Lactose produzierten. Die entstandene Hyperglykämie erklären sie durch die Annahme, die Zuckerproduktion in den Nieren werde so lebhaft, daß eine Abgabe von Zucker an das Blut stattfinde (vgl. die Lactose bei lebhafter Milchsekretion). Die Grundlage der Theorie ist die richtige Berechnung der angestellten Perfusionsversuche. Ganz von der Bedenklichkeit abgesehen, welche die Schlußfolgerungen aus Perfusionsversuchen mit einem so leicht veränderlichen Organ wie der Niere erregen, die schon ohne Phlorizin den Zucker passieren läßt, muß man auch gegen die Versuche Einwürfe erheben. Es wird dem phlorizinhaltigen Blute Chloralhydrat zugesetzt, um die Diurese in Gang zu bringen, und die zu den Versuchen und den Kontrollversuchen angewandten Chloralhydratdosen sind nicht gleich groß. Die Phlorizinversuche zeigen, daß durch eine reine Einwirkung auf die Niere eine erhöhte Zuckerausscheidung (im ganzen 0,33 bis 0,45 g) hervorgerufen wird, nicht aber, daß in der Niere eine Zuckerproduktion stattfinde. In zwei der drei Versuche fanden die Verfasser, daß die Zuckermenge des Harns (die Bestimmungsmethode wird nicht angegeben) ein wenig größer war als der Zuckerverlust des

[1]) l. c.

[2]) Journ. of Physiol. 29, 467, 1903.

[3]) Ibid. 20, 22, 1896.

Blutes. Die Berechnung dieses Verlustes ist in den beiden entscheidenden Versuchen (Exp. III bis IV) auf Grundlage des Zuckergehaltes des nicht perfundierten Blutes, das während ca. zwei Stunden des Versuches bei 37° C auf dem Wasserbade gestanden hat, unternommen worden, und es scheint nicht untersucht worden zu sein, ob und um wieviel die Glucolyse die Blutzuckermenge vermindert hat. Der 3. Versuch (Exp. II), in welchem die Zuckerbestimmung sofort unternommen wurde, gab indes das entgegengesetzte Resultat. Die Nichtberücksichtigung dieser Fehlerquelle benimmt den Versuchen die Beweiskraft.

Die angestellten Exviszerationsversuche, die darlegen, daß das Phlorizin Glucosurie erregt, selbst wenn man sämtliche Unterleibsorgane (mit Ausnahme der Nieren) entfernt hat, liefern auch keinen Beweis für eine Zuckerproduktion in den Nieren. Die Zuckerausscheidung kann allerdings nicht aus dem Blutzucker allein stammen, doch wäre es ebensowohl denkbar, daß die Zuckerproduktion aus anderen von dem Blut durchströmten Geweben herrührte.

Zur Stütze dieser Theorie wird ferner angeführt, daß Loewi[1]) bei den meisten anderen Glucosurien nach Diuretica eine gesteigerte Zuckerausscheidung findet, während solche bei der Phlorizinglucosurie nicht eintritt. Dies spricht doch nicht speziell für eine Zuckerproduktion; der Grund könnte ebensowohl der sein, daß die Niere während der Phlorizinvergiftung den Zucker ebenso schnell aufsaugte, wie er zugeführt würde, und daß die sekundäre Zuckerproduktion unter der Einwirkung der Diuretica nicht zunähme, während man bei den anderen Glucosurien eine schnellere Durchspülung mit stark zuckerhaltigem Blute und mithin stärkere Zuckerausscheidung erhielte.

Wohlgemuth und Benzur[2]) haben vor kurzem eine gesteigerte Fermentproduktion (Diastase) in den Nieren nach Phlorizin- und Phloretininjektion nachgewiesen und glauben, hierdurch bewiesen zu haben, daß sich unter der Einwirkung dieser Stoffe auf die Nierenzellen „ein katabolischer Prozeß" vollziehe, dessen schließlicher Effekt eine gesteigerte Zuckerausscheidung sei. Da dasselbe bei der Adrenalinglucosurie stattfindet, die sicherlich einen ganz verschiedenen Mechanismus hat, scheinen diese Ergebnisse mir nicht dazu geeignet, das Wesen des Phlorizindiabetes aufzuklären.

Aus Obenstehendem geht hervor, daß man in der Diskussion über den Mechanismus der Phlorizinglucosurie für die verschiedenen Auffassungen eine Reihe von Argumenten angeführt hat, deren keines einen entscheidenden Beweis für irgendeine der genannten Anschauungen liefert. Die Frage ist jetzt daher noch ebenso dunkel wie vorher.

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 1902, S. 410.

[2]) Diese Zeitschr. 21, 460, 1909.

Die prinzipielle Frage der vorliegenden Untersuchung ist folgende:

Ist die Niere während der Phlorizinvergiftung für Zucker abnorm durchlässig oder nicht?

Diese Frage hat in keiner der früheren Arbeiten eine befriedigende Beantwortung erhalten, was zur Genüge aus den streitigen Theorien hervorgeht. Da die alten Wege sich als unfahrbar erwiesen haben, u. a. weil die bei den Versuchen angewandten Eingriffe oft unberechenbare Fehler bedingen, muß man neue Wege aufsuchen.

Nimmt man willkürlich an: 1. daß die Niere während der Phlorizinvergiftung für Zucker durchlässig ist, und 2. daß die Blutzuckermenge im Vergleich mit der Norm weder zu- noch abgenommen hat, so muß gleichzeitig eine der Zuckerexkretion entsprechende Zuckerproduktion im Körper vorgehen.

Um diese Annahmen zu beweisen oder zu widerlegen, könnte es nun vielleicht genügen, die Phlorizinvergiftung mit irgendeinem Eingriffe zu kombinieren, der bei den Versuchstieren konstant eine Hyperglykämie erregt. Wenn wir nämlich in einem derartigen Falle bei den phlorizinvergifteten Tieren keine Blutzuckerzunahme, bei allen anderen dagegen eine solche erhalten, so muß dies auf gesteigerter Durchlässigkeit der Nieren während der Phlorizinvergiftung beruhen.

Bang[1]), der den Glykogenumsatz in der Leber bei Phlorizin- und Phloretinvergiftung studiert hat, beobachtete in zwei Versuchen, daß man bei Kaninchen nach Piqûre während der Phlorizinvergiftung eine geringere Hyperglykämie fand als nach Piqûre allein. Dies sprach also dafür, daß während der Phlorizinvergiftung der Zucker in größerem Umfang als normaler Weise aus dem Blute eliminiert wird. Es lag außerhalb der Aufgabe Bangs, dies weiter zu verfolgen. Auf Vorschlag des Prof. Bang habe ich nun zwecks Aufklärung dieser Frage eine systematische Untersuchung angestellt.

Die Voraussetzungen der Untersuchung sind wie oben angegeben:

I. Daß man durch einen schonenden Eingriff, der exquisit auf die Zuckerproduktion einwirkt, eine Hyperglykämie erregen kann, deren Grad sich genau feststellen läßt.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 314, 1907.

II. Daß die Phlorizinvergiftung zu keinem Zeitpunkte eine Hyperglykämie erzeugt.

Hat man durch Vorversuche nachgewiesen, daß diese Voraussetzungen vorhanden sind, so kann man zur eigentlichen Hauptuntersuchung schreiten. Diese besteht (s. oben) in:

III. Kombination der Phlorizinvergiftung mit dem die Hyperglykämie erregenden Eingriffe.

Unter den verschiedenen Arten, wie man die Hyperglucämie hervorzurufen vermag, erfüllt der Aderlaß (s. unten) die unter I. aufgestellten Forderungen.

Behufs der Kontrolle der durch Kombination von Phlorizin und Aderlaßhyperglykämie gewonnenen Resultate untersuchte ich die Kombination der Phlorizinvergiftung mit einer anderen experimentellen Hyperglykämie (der Adrenalinhyperglykämie). Über diese Versuche wird eine folgende Mitteilung berichten.

I. Einfluß des Aderlasses auf die Blutzuckermenge.

Bekanntlich bewirkt der Aderlaß eine Zunahme der Blutzuckermenge. Diese Hyperglucämie rührt — wie Bang[1]) nachgewiesen hat — von einem gesteigerten Glykogenumsatz in der Leber her. Sie erfüllt insofern die oben gestellten Forderungen, und es gilt daher nur, zu zeigen, daß sowohl mit Bezug auf die Größe der Blutzuckersteigerung als auf die Dauer der Hyperglykämie solche Gesetzmäßigkeit stattfindet, daß man im voraus die Blutzuckerkonzentration zu einem gegebenen Zeitpunkte nach dem Aderlaß annähernd angeben kann.

Zu diesem Zweck muß ich, nachdem ich a) vorerst die angewandte Methodik der Blutzuckerbestimmungen besprochen habe, b) die normale Blutzuckerkonzentration und c) die Dauer und Größe der Aderlaßglucämie bestimmen.

Methodik.

Als Versuchstiere gebrauchte ich Kaninchen. Ich wählte nur augenscheinlich gesunde Tiere, die einige Zeit hindurch von gleichartigem, kohlenhydratreichem Futter gelebt hatten. Um keine störenden Momente einzuführen, wurden die Tiere in keinem der unten angeführten Versuche einer Inanition, langdauernden Fesselung oder Narkose ausgesetzt.

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9 bis 10, 1907.

Der Aderlaß. Das Blut wurde der Carotis direkt entnommen. Wenn während desselben Versuches 2 Blutproben genommen werden sollten, wurden gleich beide Carotiden möglichst schonend freigelegt. Darauf führte ich eine Glaskanüle in die Carotis ein. Nach dem Aderlaß unterband ich die Carotis, vereinigte die Operationswunde mittels einer Sutur und befreite sofort das Tier bis kurz vor dem zweiten Aderlasse.

Die Blutzuckerbestimmungen wurden stets unmittelbar nach den Aderlässen, und zwar nach Bangs Methode[1]) unternommen, indem ich nur statt des Kaolins zur Adsorption der Kolloide das von Michaelis und Rona[2]) empfohlene kolloidale Eisenoxyd (Ferrum oxyd. dialysat. liq.; Merck) benutzte.

Da Bangs Methode zur Zuckerbestimmung als eine bequeme und genaue Methode Anerkennung gewonnen hat (Jessen-Hansen[3]), A. C. Andersen[4]), kann ich mich darauf beschränken, die Kontrollbestimmungen auszuführen, die ich unternahm, um die Brauchbarkeit des kolloidalen Eisenoxyds zu untersuchen. Bei Zusatz von NaCl erfolgt die Flockenbildung momentan.

Kontrollversuche.

a) Reduziert das Ferrum oxyd. dialys. liq. (5%); Merck?

10 ccm gesätt. NaCl-Lösung + 5 ccm H_2O (10 cm^3 verbrauchen 49,8 cm^3 Hydroxylaminlösung).

10 ccm gesätt. NaCl-Lösung + 2 ccm koll. Eisenoxyd und 3 ccm H_2O (10 ccm verbrauchen 49,6 ccm Hydroxylaminlösung).

10 ccm gesätt. NaCl-Lösung + 4 ccm koll. Eisenoxyd und 1 ccm H_2O (10 ccm verbrauchen 49,7 ccm Hydroxylaminlösung).

b) Reißt die Fällung des Ferrum oxyd. dial. Zucker mit sich?

0,2503 g reinen Traubenzuckers = 0,2486 g wasserfreier Glucose[5]) werden in 100 ccm H_2O gelöst.

10 ccm enthalten . . . . . 24,9 mg Glucose

10 ccm Glucoselösung 3 „ gesätt. NaCl-Lösung 2 „ koll. Eisenoyd	Ausflocken Filtrieren Titrieren (Bang)	gefunden 25,8 mg Glucose
10 ccm Glucoselösung 3 „ gesätt. NaCl-Lösung 2 „ koll. Eisenoxyd	Ausflocken Filtrieren Titrieren	gefunden 24,8 mg Glucose

[1]) Diese Zeitschr. 2, 271; 7, 327; 11, 538.

[2]) Diese Zeitschr. 8, 356.

[3]) Diese Zeitschr. 10, 249.

[4]) Meddelelser fra Carlsberg Laboratorium 7, 207, 1909.

[5]) Das mir vom Herrn Prof. S. P. L. Sörensen, Carlsberg, gütigst überlassene Präparat enthielt 99,344% wasserfreie Dextrose. Der Rest bestand aus nicht reduzierenden Stoffen.

c) Gibt die Eisenoxydmethode dieselben Resultate wie die Kaolinmethode?

I. Zuckerbestimmung in einer willkürlichen Zuckerlösung.

1. 30 ccm Glucoselös. 7 „ gesätt. NaCl-Lös. 3 „ koll. Eisenoxyd	Schütteln, Filtrieren, Titrieren, 10 ccm enthielten 15,8 mg Glucose = 0,211 %
2. 20 ccm Glucoselös. 7 „ gesätt. NaCl-Lös. 3 „ dest. Wasser 8 Messerspitzen Kaolin	Schütteln, Filtrieren, Titrieren, 10 ccm enthielten 15,4 mg Glucose = 0,205 %
3. Wiederholung von 2	Schütteln, Filtrieren, Titrieren, 10 ccm enthielten 15,5 mg Glucose = 0,207 %.

II. Zuckerbestimmung im Kaninchenblute.

1. Die Kaolinmethode ergab ein hellgelbes Filtrat; die Blutzuckermenge = 0,09 %.

2. Die Eisenoxydmethode ergab ein farbloses Filtrat; die Blutzuckermenge = 0,08 %.

Da hierdurch dargelegt wird, daß die Anwendung kolloidalen Eisenoxyds der Genauigkeit der Zuckerbestimmung nicht nachteilig ist, und da die Filtrate nach der Flockenbildung — was bei der Kaolinmethode nicht der Fall ist — klar und farblos sind, kann ich diese kleine Änderung der Bangschen Blutzuckerbestimmung nur empfehlen. Diese führte ich später stets in folgender Weise aus, indem ich Bangs Vorschriften sonst genau befolgte: Der Eindampfungsrest der alkoholischen Blutextrakte wird quantitativ (mittels destillierten Wassers) in einen Meßzylinder übergeführt, Darauf setzte ich 3 ccm gesättigter NaCl-Lösung und 3 ccm Ferr. oxyd. dialys. hinzu und las die Menge der Flüssigkeit (am liebsten ca. 18 bis 20 ccm im ganzen) ab. Ich kehrte das Glas mehrmals um, worauf ich durch ein kleines Faltenfilter filtrierte, 10 ccm des klaren Filtrats abpipettierte und titrierte. Es erwies sich, daß die von Bang angegebene Dauer des Zentrifugierens sich ohne Nachteil um wenigstens die Hälfte verkürzen läßt, wenn man eine kräftige Zentrifuge anwendet. Zu einer vollständigen Blutzuckerbestimmung a. m. Bang gebraucht man dann nur ca. 3 Stunden.

Die Blutzuckerkonzentration bei Kaninchen.

Nach den Angaben verschiedener Autoren kann man die normale Blutzuckerkonzentration des Kaninchens[1]) auf ca. 0,1 % ansetzen.

Schenck[2]) fand nach Sublimatfällung und Knapps Titrierung als Mittel von 15 Bestimmungen 0,12 % (0,07 bis

[1]) Wo anderes nicht angeführt ist, verstehe ich hierunter die gefundene Totalreduktion (des Alkoholextraktes des Blutes) berechnet = Glucose.

[2]) Pflügers Archiv 67. 553, 1894.

0,16%); Lewandowski[1]) fand nach Seegens Methode und Reduktionsbestimmung nach Allihn-Meisel: 0,09% (Mittel von 3 Bestimmungen) und Rose[2]) nach Seegens Methode und Knapps Titrierung 0,10 bis 0,11%. Endlich fand N. Andersson[3]) nach Bangs Methode als Durchschnitt von 13 Bestimmungen eine Blutzuckerkonzentration von 0,12% (0,11 bis 0,14%). Ich selbst führte der Kontrolle wegen in oben angegebener Weise 7 Bestimmungen aus, die ich hier anführe (Tabelle I). Der durchschnittliche Wert betrug 0,13% (0,09 bis 0,16%).

Tabelle I.

Datum	Nr.	Gewicht	Blutmenge	Blutzucker	Anmerkungen
4./IV. 09	1	1400 g	8,2 ccm	0,15 %	Langsame Blutung aus der Ohrvene
5. IV. „	2	1300 „	10,1 „	0,13 „	
8. IV. „	5	900 „	22,9 „	0,09 „	
10. IV. „	7	900 „	13,7 „	0,12 „	
12. IV. „	9	1100 „	17,9 „	0,10 „	
22. IV. „	19	2300 „	26,8 „	0,13 „	
24. IV. „	20	2000 „	20,7 „	0,16 „	Gravid

Die von N. Andersson und von mir unternommenen 20 Bestimmungen nach Bangs Methode ergeben also für normale Kaninchen durchschnittlich 0,12 bis 0,13 % Blutzucker. Es gibt indes bedeutende individuelle Schwankungen (0,09 bis 0,16%), doch sind die äußersten Grenzen relativ selten.

Bekanntlich ist ein Teil der Reduktion gewissen unbekannten, nicht gärungsfähigen Kohlenhydraten („Restzucker") zu verdanken. Diese betragen nach Andersson ca. 25% der gefundenen Werte der Totalreduktion, so daß man nur ca. 75% derselben = Glucose rechnen kann.

Dauer der Aderlaßhyperglykämie.

Die Zunahme des Blutzuckers nach Aderlaß wurde zuerst von Cl. Bernard[4]) beobachtet. Die Aderlaßhypergluc-

[1]) l. c.
[2]) l. c.
[3]) Diese Zeitschr. 12, 1, 1908.
[4]) Leçons sur le diabète. Paris 1877.

ämie wurde später von Schenck, Lewandowski, Rose und N. Andersson genauer untersucht. Ich selbst habe die Untersuchungen dieser Forscher durch 3 Bestimmungen ergänzt. Diese gehen aus untenstehender Tabelle (II) hervor, in welcher ich, um ein zusammenfassendes Bild von der Dauer der Aderlaßhyperglykämie und der Größe der Blutzuckervermehrung zu geben, die Versuche der verschiedenen Autoren geordnet, nach dem Zeitraum zwischen den Aderlässen, zusammengestellt habe.

Tabelle II.

Untersucher	Zeitraum zwischen den Aderlässen in Min.	Erster Aderlaß: Blutmenge g	Erster Aderlaß: Zucker %	Zweiter Aderlaß: Blutmenge g	Zweiter Aderlaß: Zucker %	Ansteigung: Relative Blutzuckersteigerung %	Ansteigung: Absolute Blutzuckersteigerung %	Absolute Steigerung durchschnittlich in Min.
Erlandsen	5	8,2	0,15	10,1	0,18	20,0	0,03	
Andersson	5	23,0	0,14	16,7	0,23	64,3	0,09	
„	6	23,9	0,12	20,4	0,18	50,0	0,06	
„	7	18,4	0,12	36,4	0,20	66,7	0,08	
„	8	31,6	0,12	19,4	0,24	100,0	0,12	
„	10	23,1	0,12	26,9	0,16	33,3	0,04	5—15 Min.
„	12	34,2	0,13	19,8	0,17	30,8	0,04	0,07 %
Schenck	10—15	21,8	0,07	27,5	0,14	100,0	0,07	
„	„	27,0	0,08	26,6	0,16	100,0	0,08	
„	„	24,7	0,08	30,1	0,15	87,5	0,07	
„	„	29,7	0,12	28,7	0,16	33,3	0,05	
„	„	22,4	0,14	23,5	0,22	57,1	0,08	
„	„	22,2	0,16	25,1	0,22	37,5	0,06	
Andersson	15	29,8	0,12	22,4	0,23	91,7	0,11	
„	22	34,4	0,12	20,5	0,32	166,7	0,20	22—30 Min.
„	30	40,4	0,12	21,4	0,37	191,7	0,23	0,21 %
Erlandsen	30	17,9	0,10	15,3	0,31	210,0	0,21	
Lewandowski	60—90	20,0	0,11	25,0	0,26	136,3	0,15	60—90 Min.
„	„	27,0	0,08	21,0	0,31	287,5	0,23	0,17 %
„	„	20,0	0,09	20,0	0,22	144,4	0,13	
Erlandsen	120	13,7	0,12	24,5	0,13	8,3	0,01	
Schenck	„	21,0	0,16	25,7	0,16	0,0	0,00	120 Min.
„	„	25,8	0,13	27,8	0,16	23,1	0,03	0,02 %
„	„	27,0	0,12	27,4	0,14	16,7	0,02	

Der Aderlaß bewirkt also bei Kaninchen konstant eine Hyperglucämie, die in fast gesetzmäßiger Weise verläuft. Sie hat bereits 5 Minuten nach dem Aderlasse angefangen, nimmt allmählich zu und erreicht ihr Maximum ca. $^1/_2$ Stunde nach dem Aderlasse. Zu diesem Zeitpunkte ist die Blutzuckerkonzentration ca. 0,33 %

(d. h. ca. dreimal so groß wie vor dem Aderlasse). Die Hyperglykämie dauert bis ca. 1 bis $1^1/_2$ Stunden nach dem Aderlasse an, worauf die Blutzuckermenge schnell abnimmt, so daß die Hyperglykämie ca. 2 Stunden nach dem Aderlasse verschwunden ist. Die Größe der Blutzuckersteigerung scheint (vgl. Andersson) von der Menge des entleerten Blutes unabhängig zu sein.

Den Verlauf der Aderlaßhyperglykämie veranschaulicht nebenstehendes Diagramm (Fig. 1), dessen Ordinaten die absoluten Blutsteigerungen, dessen Abscissen die seit dem Aderlasse verflossenen Minuten bezeichnen.

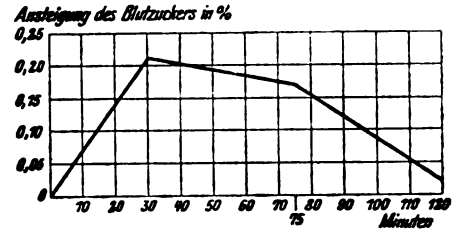


Fig. 1.

Was das Verhalten des Harns betrifft, so gibt Lewandowski an, daß die Aderlaßhyperglucämie keine Glucosurie erregt. Dies habe ich in einem einzelnen Versuche (Nr. 7) bestätigen können. An einem Kaninchen wurden in einem Zwischenraum von 2 Stunden zwei Aderlässe vorgenommen. Die Blutzuckermenge betrug in den beiden Bestimmungen 0,12 bzw. 0,13 %. Der während der 2 Stunden ausgeschiedene Harn reduzierte Alméns Lösung nicht und zeigte eine Totalreduktion = 0,18 %.

Der Aderlaß befriedigt mithin die gestellten Forderungen, indem er auf schonende Weise eine vorübergehende Hyperglykämie erzeugt, deren Grad sich genau feststellen läßt und die von einer primären Zuckerproduktion herrührt. Derselbe erzeugt sonst keine anderen nachweisbaren Veränderungen.

II. Bewirkt die Phlorizininjektion eine Hyperglykämie?

Die zweite Voraussetzung der geplanten Versuche war die, daß das Phlorizin keine Blutzuckersteigerung errege. Um

hierüber ins klare zu kommen, injizierte ich einer Reihe Kaninchen von ungefähr derselben Größe 0,75 g Phlorizin und führte zu verschiedenen Zeiten nach der Injektion Blutzuckerbestimmungen aus. Das Phlorizin, das stets in 15 ccm Wasser unter Zusatz einiger Tropfen Na_2CO_3-Lösung gelöst wurde, injizierte ich subkutan. Selbstverständlich unternahm ich in jedem Versuche nur einen einzigen Aderlaß. Die Bestimmungen umfassen die ganze Periode (15 Minuten bis 12 Stunden), die besonderes Interesse darbietet (s. unten). Die Tabelle III gibt die Versuche wieder.

Tabelle III.

Datum	Nr.	Gewicht g	Seit der Injektion verflossene Zeit	Blutzucker %	Leberglykogen[1])	Vorhergehende Zuckerausscheidung g
25. IV.	21	2000	15 Min.	0,11	—	—
26. IV.	22	1800	15 „	0,15	—	—
27. IV.	25	2100	15 „	0,13	—	—
18. IV.	15	1900	30 „	0,09	—	0,14
17. IV.	14	2500	60 „	0,14	—	0,30
16. IV.	13	2300	75 „	0,10	—	0,33
19. IV.	16	2800	2 St.	0,15	—	0,70
20. IV.	17	1700	2½ St.	0,07	—	1,03
21. IV.	18	2200	3 „	0,15	4—5 %	1,08
26. IV.	23	2300	3 „	0,13	sehr reichlich	1,11
16. VI.	35	1900	4½ „	0,07	schwache Spuren	1,57
17. VI.	36	2300	10 „	0,11	sehr spärlich	2,91
19. VI.	38	3000	12 „	0,09	Spuren	4,91

Die Versuche ergeben das zweifellose Resultat, daß bei Kaninchen während der Phlorizinvergiftung zu keinem Zeitpunkte eine nachweisbare Hyperglykämie eintritt. Die gefundenen Blutzuckerwerte schwanken innerhalb der Grenzen, die wir oben (Tabelle I) als die normalen fanden.

[1]) Die Glykogenbestimmungen wurden stets sofort nach der Verblutung des Tieres, und zwar nach Pflügers Methode (Bangs Modifikation) ausgeführt.

Der durchschnittliche Wert sämtlicher Bestimmungen beträgt 0,11% und ist mithin eher ein wenig niedriger als die von N. Andersson und mir gefundenen Durchschnittswerte. Der Unterschied ist jedoch gar zu gering, um hieraus Folgerungen ziehen zu können. Die Zuckerbestimmungen nach Verlauf von $4^1/_2$ bis 12 Stunden ergaben durchschnittlich nur 0,09% Blutzucker. Die Versuche waren aber an Sommerkaninchen angestellt worden (vgl. Gürber[1]), Bang[2])), die trotz vorhergehender Zuckerfütterung sehr glykogenarm waren. Man hat mithin auch keinen Anhaltspunkt für die Annahme einer Hypoglucämie während der ersten 12 Stunden der Vergiftung.

Diese 13 Versuche sind natürlich nicht imstande, die entgegengesetzten Resultate früherer Forscher (Coolen, Pavy, Biedl und Kolisch) umzustoßen; oben wurde aber berührt, daß Coolen nur 3 Bestimmungen, und zwar nach Seegens Methode, ausführte, daß Biedl und Kolisch vorhergehende Aderlässe nicht hinlänglich berücksichtigten, und daß Pavys 8 Untersuchungen an nicht narkotisierten Katzen mit einer abweichenden Technik (Inversion von Blutextrakt) unternommen wurden, wie es auch nicht ersichtlich ist, wie lange die Katzen gefesselt waren[3]). Diese Versuche vermögen daher die Allgemeingültigkeit meiner Resultate nicht zu schwächen.

Außerdem zeigen die Versuche, daß bei normaler Blutzuckerkonzentration während der Phlorizinvergiftung eine sehr bedeutende Zuckerausscheidung durch die Nieren stattfindet.

Nach diesen Vorversuchen kann ich zur Hauptuntersuchung schreiten.

III. Kombination der Phlorizinvergiftung mit Aderlaß.

Obige Untersuchungen haben uns über den Aderlaßmechanismus aufgeklärt. Es erübrigt, bevor wir die beiden Eingriffe kombinieren, zu untersuchen, wie schnell das Phlorizin wirkt. Die Untersuchung des Harns wird uns hier die Beantwortung geben.

---

[1]) Sitzungsber. d. phys.-med. Gesellsch. zu Würzburg 1895, S. 17.

[2]) Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, S. 420.

[3]) Vgl. Boehm u. Hoffmanns Fesselungsdiabetes bei Katzen.

A. Der Verlauf der Phlorizinglucosurie.

Beim Studium der Phlorizinglucosurie ließ ich es mir angelegen sein, stets Versuchstiere (Kaninchen) von fast derselben Größe anzuwenden. Als Injektionsdosis wählte ich 0,75 g Phlorizin, die subcutan injiziert wurden, und die ich unmittelbar vor der Injektion in 15 ccm warmen Na_2CO_3-haltigen Wassers löste. Vor der Injektion entleerte ich die Harnblase und untersuchte den Harn auf Zucker. Die Tiere wurden sonst keiner Vorbereitung unterworfen, so daß anzunehmen ist, daß sie sich im Anfang des Versuches unter normalen Verhältnissen befanden (d. h. im Verdauen begriffen). Die Injektion scheint die Tiere nicht sonderlich anzugreifen. Das Datum der Versuchstage wird im folgenden stets angeführt, um bei der Diskussion den eventuellen Einfluß der Jahreszeit berücksichtigen zu können.

Der Harn wurde in allen Fällen, wo es möglich war (Männchen), mittels des Katheters entleert. In den anderen Fällen (Weibchen) wurde derselbe exprimiert. Die letzteren Versuche habe ich in den untenstehenden Tabellen durch eine Fußnote bezeichnet. In diesen Versuchen ist die Trennung der einzelnen Harnportionen weniger genau.

Die Harnzuckerbestimmung führte ich in allen Fällen nach Bangs Methode aus. Von dem hierdurch gefundenen Werte der Totalreduktion wurden durchschnittlich 0,25 % für die Eigenreduktion des Harns abgezogen. Den abgezogenen Wert fand ich als Durchschnitt einer Reihe von Versuchen, in denen ich die Reduktion des Harns vor und nach Vergärung bestimmte. Die danach in den Tabellen angegebenen Werte sind also Nettowerte.

Die in den Tabellen IV und V wiedergegebenen Versuche wurden sämtlich an verschiedenen Tieren ausgeführt.

Die Versuche zeigen, daß die Glucosurie schon $^1/_2$ Stunde nach der Injektion angefangen hat, und daß die Zuckerausscheidung in ganz gesetzmäßiger Weise stattfindet, indem sie bei den verschiedenen Versuchstieren Stunde für Stunde dieselbe Größe hat. Die gegenseitigen Abweichungen sind in Betracht des verschiedenen Gewichts der Tiere und des Fehlers bei der Trennung der

Tabelle IV.

Die Zuckerausscheidung im Harn in Gramm pro Stunde nach 0,75 g Phlorizin.

Datum	Nr. des Versuchs	Gewicht g	½ St.	1. St.	2. St.	3. St.	4. St.	5. St.	6. St.	7. St.	8. St.	9. St.	10. St.	11. St.	12. St.	Im ganzen in 13 bis 24 Std.	Bemerkungen
18. IV.	15	1900	0,14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
19. „	16	2800[1])	0,08	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
15. „	13	2300	—	0,26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
17. „	14	2500	—	0,29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
26. „	22	1800	—	0,27	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
19. „	16	2800[1])	—	0,24	0,48	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20. „	17	1700	—	0,33	0,49	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	In der 1. Stde. kaum quantitativ exprimiert
28. „	26	2100[1])	—	(0,20)	0,52	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
28. „	27	1900[1])	—	0,21	0,43	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
18. VI.	37	2100	—	0,25	0,26	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
20. IV.	18	2200[1])	—	0,31	0,45	0,31	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
26. „	23	2300	—	0,29	0,41	0,41	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
16. VI.	35	1900	—	—	1,10	—	0,29	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
17. „	36	2300	—	2,84								0,07	—	—	—	—	
19. „	38	3000	—	4,81											0,10	—	3,28 g pro 2 kg
4. „	30	2200	—	0,28	0,40	0,38	0,38	0,28	0,45		0,16		0,36			0,16	In der 24. St. ÷ Zucker
7. „	31	1900	—	0,25	0,29	0,39	0,35	0,36	0,66		0,38		0,29		0,27		„ „ 27. „ ÷ „
9. „	32	2000	—	0,19	0,38	0,37	0,41	0,40	0,34	0,46			0,37			0,15	„ „ 25. „ ÷ „
Durchschnitt pro Stunde			0,11	0,27	0,41	0,37	0,36	0,35	0,30	0,26	0,17	0,12	0,12	0,12	0,10	0,16	

[1]) Weibchen.

Tabelle V.

Diurese und Zuckerkonzentration im Harn pro Stunde.

Nr. des Versuchs	1. St.		2. St.		3. St.		4. St.		5. St.		6. St.		7. St.		8. St.		9. St.		10. St.		11. St.		12. St.		Im ganzen in 13. bis 24. St.		Bemerkungen
	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	ccm	%	
14	8	3,7																									
22	7,5	3,5																									
16[1])	5,3	3,5	10,5	4,6																							
17	9	3,7	14	3,5																							
26[1])	4,5	4,5	9	5,8																							
27[1])	5,2	4,1	7	6,2																							
37	26,5 ccm 1,7%																										
18[1])	16,3	1,9	20	2,3	3,5	8,2																					
23	13,5	2,2	7,5	5,5	6,4	6,4																					
35	40 ccm 2,8%																										
36	38 ccm 7,5%																		6,5	0,9							
38	75,1 ccm 6,4%																				1,8	5,4					
30	4	7,0	7,5	5,3	13,5 ccm 5,5%				3	9,3	52 ccm 8,3%				4 ccm 4,0%				8 ccm 3,4%						50	0,3	
31	6	4,1	9,5	3,1	8	4,9	5,5	6,4	5	7,3	8 ccm 8,3%				5,5 ccm 6,8%				5,2 ccm 5,6%				39 ccm 0,8%				25.–26. St. 0,1%
32	16,5	1,1	14,5	2,7	9	4,2	7	5,8	6	6,6	7	4,9	8 ccm 5,8%				14 ccm 2,7%								32	0,5	24 St. 0,2%
Diurese pro St. in ccm	9,4		10,6		7,8		6,1		5,0		4,9		4,4		4,0		3,9		4,5		3,9		2,7		3,1		
Zucker %	3,8		4,0		6,0		6,3		7,4		7,1		7,2		6,1		5,5		3,8		3,9		3,0		0,5		

[1]) Weibchen.

Harnportionen usw. so unerheblich, daß man durch die mittleren Werte sämtlicher Versuche ein annähernd richtiges Bild von dem Verlaufe der Phlorizinglucosurie erhält. Die Fig. 2 stellt diese mittleren Werte graphisch dar.

Die Zuckerausscheidung beginnt, wie gesagt, schon in der ersten halben Stunde. Die Vergiftung ist folglich bereits eingetreten, bevor $^1/_2$ Stunde seit der Injektion verstrichen ist. Die Zuckerausscheidung erreicht ihr Maximum in der 2. Stunde, sinkt unbedeutend während der folgenden

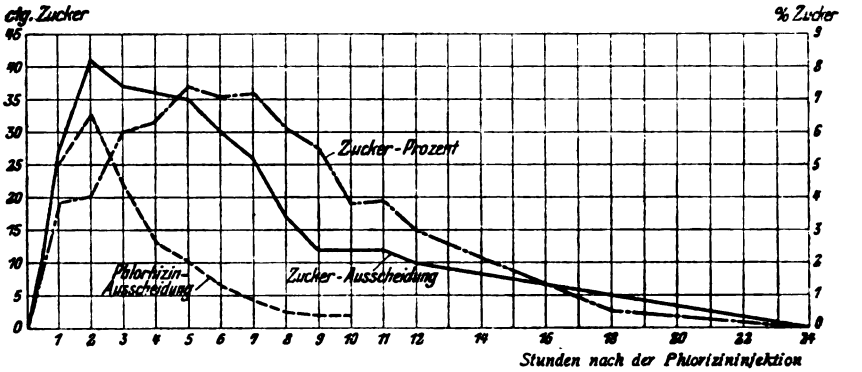


Fig. 2.

Stunden, um nach Verlauf von 5 Stunden stark abzunehmen. Von der 12. Stunde an ist die Zuckerausscheidung nur gering und nach Verlauf von 24 Stunden hat die Glucosurie aufgehört. Die ausgeschiedenen Zuckermengen sind beträchtlich. Schon in der 1. Stunde wird mehr Zucker ausgeschieden, als in dem injizierten Phlorizin enthalten ist. Die gesamte Zuckerausscheidung während 24 Stunden beträgt für ein ca. 2 kg wiegendes Kaninchen ca. 3 g Zucker (Durchschnitt sämtlicher Versuche 3,11 g). In einem einzelnen Versuche (Nr. 38) stieg die Ausscheidung auf ca. 5 g, dieses Kaninchen wog aber ca. 3 kg, so daß die Zuckerausscheidung pro Kilogramm fast die gleiche war wie in den übrigen Versuchen. Die wenigen Angaben über diese Frage, die ich in der Literatur gefunden habe, rühren von Coolen[1]) her, der nach Injektion von 1 g Phlorizin an Kaninchen eine

[1]) l. c.

Zuckerausscheidung von 3,4 bzw. 3,7 g fand (nach der Totalreduktion des Harns berechnet). Aus meinen Versuchen berechnete ich, daß die Korrektion der Eigenreduktion des Harns diese Werte um wenigstens 0,2 g (im Laufe von 24 Stunden) vermindert. Coolens Werte sind folglich, trotz der etwas höheren Phlorizindosis, mit den meinigen identisch.

Die Größe der Diurese ist in den verschiedenen Versuchen selbstverständlich schwankend, es erscheint indes nach der Injektion eine kurze Polyurie. Es ist jedoch in Betracht zu ziehen, daß 15 ccm Wasser injiziert worden sind.

Die Zuckerkonzentration im Harn steigt während der abnehmenden Diurese und erreicht ihr Maximum 5 bis 7 Stunden nach der Injektion, indem sie dann 7 bis 8 % beträgt.

Die Phlorizinausscheidung. Da meines Wissens keine Methode zur quantitativen Bestimmung kleiner Mengen Phlorizin im Harn angegeben ist, versuchte ich es, solche auf kolorimetrischem Wege zu bestimmen, indem ich die Stärke der Eisenchloridreaktion maß.

Die Farbenskala stellte ich in folgender Weise her: In stark verdünntem Kaninchenharn löste ich genau 0,1 % Phlorizin auf. Von dieser Lösung pipettierte ich steigende Mengen in eine Reihe (13) kalibrierte Reagensgläser ab, in die eine Marke für 10 ccm eingeschliffen ist. Die Gläser enthielten also 1, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 30, 40. 60, 80, 100 mg Phlorizin. Ich träufelte 1 Tropfen Eisenchloridlösung hinzu und füllte Wasser bis zur Marke 10 ccm nach. Die Farbenskala war gut und erhielt sich mehrere Tage lang. Die Reaktion war deutlich bis zum Glas Nr. 4 (d. h. 1 : 25000).

Die Probe wurde nun so angestellt, daß ich von dem betreffenden Harn 0,1 bis 0,5 ccm in ein Reagensglas von derselben Weite wie die Gläser der Skala abmaß, mit dest. Wasser + 1 Tropfen Eisenchlorid bis 10 ccm nachfüllte, schüttelte und verglich. Die Berechnung folgt von selbst. Es erwies sich, daß die Stärke der Reaktion und der Farbenton ziemlich erheblich abgeschwächt werden, wenn man größere Harnmengen zusetzt. Dies bewirkt einige Ungenauigkeit, besonders bei den kleinen Werten, wo man relativ große Harnmengen anwenden muß. Hier wird die Reaktion wegen der Phosphatausscheidung auch etwas undeutlich.

Die Methode war nicht genau, indem sie zu niedrige Werte zu geben schien. So fand ich in zwei Versuchen nur wenig mehr als $^1/_3$ des injizierten Phlorizins wieder. Doch gaben die Bestimmungen gewisse Aufschlüsse über den Zeitpunkt der Phlorizinausscheidung. Das Resultat von zwei übereinstimmenden Versuchen habe ich deshalb in Fig. 2 eingezeichnet, und

es erweist sich, daß die maximale Phlorizinausscheidung mit der stärksten Zuckerausscheidung zusammenfällt. Die Phlorizinausscheidung scheint rasch abzunehmen, da die Bestimmungen aber keine sicheren Aufschlüsse hinsichtlich der kleinen Werte gaben, muß es dahingestellt bleiben, ob die Ausscheidung von Phlorizin ebenso lange oder länger anhält wie die Glucosurie.

Nachdem nunmehr die Frage ihre Beantwortung gefunden hat, wie lange nach der Phlorizininjektion der Aderlaß zu erfolgen hat, wenn er während der Phlorizinvergiftung angebracht werden soll, sind wir im Besitze aller Daten zur Beantwortung unserer Hauptfrage.

B. Wie verhält sich der Blutzucker nach Phlorizininjektion und Aderlaß?

Wir sahen oben (Tabelle II), daß der Aderlaß eine Hyperglykämie bewirkt, die nach Verlauf von 30 Minuten ca. 0,34% erreicht (absolutes Steigen ca. 0,21%). Außerdem sahen wir, daß die Phlorizinvergiftung $^1/_2$ Stunde nach der Injektion begonnen hat.

Um nun zu untersuchen, inwiefern die Aderlaßhyperglykämie bei den phlorizinvergifteten Tieren eintritt, unternahm ich Aderlässe aus der Carotis mit einem konstanten Zeitintervalle von 30 Minuten zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Anfang der Phlorizinvergiftung. Die Blutzuckerbestimmungen stellte ich an dem Blute aus den beiden Aderlässen an. Sowohl Technik als Phlorizindosis sind dieselben wie in früheren Versuchen. Die Aderlässe wurden von $^1/_2$ Stunde bis 12 Stunden nach der Phlorizininjektion unternommen. Die Tabelle VI gibt die Versuche wieder.

Man sieht hieraus, daß die Blutzuckersteigerung nach einem Aderlaß schon in der ersten Stunde nach der Phlorizininjektion wesentlich geringer als normal ist, und wenn die Aderlaßperiode 2 bis 4 Stunden nach der Phlorizininjektion liegt, unterbleibt die Hyperglykämie fast gänzlich. In den späteren Stadien der Vergiftung (10 bis 12 Stunden nach der Injektion) vermag die Blutzuckerkonzentration sich kaum auf ihrer früheren Höhe zu erhalten. Letztere Versuche waren indes an Sommerkaninchen ausgeführt worden.

Tabelle VI.

Datum	Nr. des Versuchs	Gewicht in g	Zeitraum zwischen der Injektion und dem 1. Aderlaß	Zeitraum zwischen den Aderlässen	1. Aderlaß Blutzucker in %	2. Aderlaß Blutzucker in %	Absolute Blutzuckersteigerung in %
18. IV.	15	1900	$^1/_2$ Std.	30 Min.	0,09	0,17	0,08
17. IV.	14	2500	1 „	30 „	0,14	0,22	0,08
19. IV.	16	2800	2 „	30 „	0,15	0,21	0,06
20. IV.	17	1700	$2^1/_2$ „	30 „	0,07	0,09	0,02
21. IV.	18	2200	3 „	30 „	0,15	0,09	0,04
26. IV.	23	2300	3 „	30 „	0,13	0,17	0,04
16. VI.	35	1900	$4^1/_2$ „	30 „	0,07	0,09	0,02
17. VI.	36	2300	10 „	30 „	0,11	0,11	0,00
20. VI.	38	3000	12 „	30 „	0,09	0,07	÷ 0,02

Der Aderlaß bewirkt mithin keine Hyperglykämie, wenn die Phlorizinvergiftung eingetreten ist. Wie steht es nun hiermit, bevor die Phlorizinwirkung recht in Gang gekommen ist? Hierüber geben folgende Versuche (Tabelle VII) Auskunft.

Tabelle VII.

Datum	Nr. des Versuchs	Gewicht in g	Zeitraum zwischen der Injektion und dem 1. Aderlaß	Zeitraum zwischen den Aderlässen	1. Aderlaß, Blutzucker in %	2. Aderlaß, Blutzucker in %	Absolute Blutzuckersteigerung in %	
22. IV.	19	2300	1 Min.	30 Min.	0,13	0,33	0,20	Phlorizinzeit 31—32 Min.
24. IV.	20	2000	2 „	30 „	0,16	0,35	0,19	
25. IV.	21	2000	15 „	30 „	0,11	0,25	0,14	Phlorizinzeit 45 Min.
27. IV.	25	2100	15 „	30 „	0,13	0,27	0,14	

Diese Versuche zeigen, daß in der ersten halben Stunde nach der Injektion durch Aderlaß eine Hyperglykämie von normaler Größe erregt wird; schon 45 Minuten nach der Injektion wird die Aderlaßhyperglykämie geringer, ist aber doch noch deutlich.

Die in den Tabellen VI und VII wiedergegebenen Versuchsresultate finden sich in Fig. 3 graphisch aufgezeichnet; die Blutzuckerwerte des 2. Aderlasses sind als Ordinaten, die

Phlorizinzeiten als Abscissen eingesetzt. Die punktierte Linie (A) bezeichnet den normalen Blutzuckergehalt, der in allen Versuchen = 0,13% angesetzt ist. Die Blutzuckerwerte sind demgemäß berechnet. Die völlig ausgezogene Linie (B) bezeichnet die Aderlaßhyperglykämie (nach 30 Minuten) bei nicht vergifteten Tieren.

Es ist also mit aller erwünschten Klarheit erwiesen, daß das Phlorizin bei Kaninchen die Aderlaßhyperglykämie vermindert bzw. aufhebt.

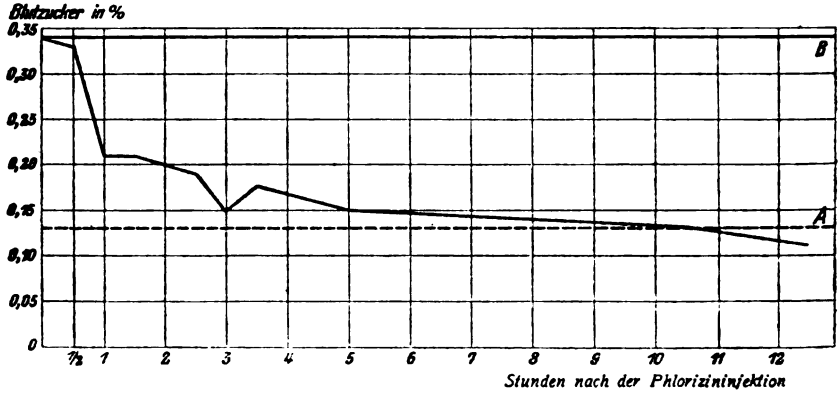


Fig. 3.

Dies läßt sich nur in zweifacher Weise erklären. Entweder hat die Durchlässigkeit der Niere für Zucker zugenommen oder es muß die Zuckerzufuhr zum Blute (der Glykogenumsatz in der Leber) abgenommen haben. Hierüber gibt uns die Harnuntersuchung Aufschluß. Vergleicht man nämlich die während der 30 Minuten des Aderlaßintervalles ausgeschiedenen Zuckermengen mit denjenigen Zuckermengen, die ohne Aderlaß (s. Tabelle IV) während derselben Phlorizinperiode ausgeschieden worden wären, so muß man hierdurch die Beantwortung der Frage erhalten können, ob das Ausbleiben der Aderlaßhyperglykämie von der Zunahme der Zuckerexkretion oder von der Abnahme der Zuckerproduktion herrührt. In der Tabelle VIII sind die in dieser Beziehung angestellten Versuche angeführt. Die hervorgehobenen Zahlen bezeichnen, daß der Ausschlag als reell (außerhalb der Fehlergrenze liegend) zu betrachten ist.

Tabelle VIII.

Nr.	Zeit zwischen Injektion und Aderlaß	Aderlaßperiode	Zeit nach Phlorizininjektion	Während der Aderlaßperiode ausgeschiedener Zucker in g	Berechnet für dieselbe Phlorizinperiode in g	Bemerkungen
19	1 Min.	30 Min.	31 Min.	0,11	0,11	*) Während dieser und der vorhergehenden halben Stunde wurden im ganzen 0,40 g ausgeschieden; wieviel der Aderlaßperiode zukommt, läßt sich daher nicht bestimmt angeben.
20	2 „	30 „	32 „	0,10	0,11	
21	15 „	30 „	45 „	0,15	0,14	
25	15 „	30 „	45 „	0,15	0,14	
15	30 „	30 „	1 St.	0,30	0,16	
14	1 St.	30 „	1½ St.	0,31	0,20	
17	2½ St.	30 „	3 „	(0,20)*	0,18	
18	3 „	30 „	3½ „	0,31	0,18	
23	3 „	30 „	3½ „	0,28	0,18	
35	4½ „	30 „	5 „	ca. 0,18	0,17	
36	10 „	30 „	10½ „	0,25	0,06	
38	12 „	30 „	12½ „	0,10	0,05	NB. Das Tier wog allerdings 3000 g.

Hieraus geht hervor, daß der Aderlaß auf dem Gipfel der Phlorizinvergiftung (1 bis 4 Stunden nach der Injektion) eine bedeutend gesteigerte Zuckerausscheidung bewirkt. Zugleich bleibt die Aderlaßhyperglykämie aus. Es erweist sich aber, daß der im Blute vermißte Zucker mit dem Harn ausgeschieden ist.

Es kann hiernach keinen Zweifel unterliegen, daß während der Phlorizinvergiftung ein abnormes renales Zuckereliminationsvermögen vorhanden ist.

Eine nähere Betrachtung der oben angeführten Versuche zeigt, daß sich im Anfang der Phlorizinvergiftung (< 1 Stunde nach der Injektion) nach Aderlaß keine gesteigerte Zuckerausscheidung nachweisen läßt. Zu diesem Zeitpunkt ist die Zuckerausscheidung gleich stark, die Blutzuckermenge mag nun normal oder auch vermehrt sein. Dies gibt an, daß nicht die Blutzuckerkonzentration das Entscheidende ist. Die Zuckerausscheidung ist im Gegenteil von dieser unabhängig. Das Eliminationsvermögen der Niere ist zu diesem Zeitpunkte noch zu gering, um sämtlichen zugeführten Zucker aufsaugen zu können.

Auf dem Gipfel der Vergiftung ist das Eliminationsvermögen der Niere weit größer und wird unter gewöhnlichen Verhältnissen nicht gänzlich ausgenutzt. Erregt man nämlich zu diesem Zeitpunkt eine Hyperglykämie, so gewahrt man sofort gesteigerte Zuckerausscheidung.

Gegen Ende der Phlorizinglucosurie scheint das Zuckereliminationsvermögen der Niere noch gesteigert zu sein, die Versuche sind aber gar zu unsicher (Sommerkaninchen!), um eine eingehendere Diskussion zu gestatten.

Der Umstand, daß das nachgewiesene renale Zuckereliminationsvermögen parallel zur Phlorizinausscheidung zunimmt, und daß die Zuckerausscheidung nicht von der Blutzuckerkonzentration abhängig ist, zeigt, daß die Einwirkung auf die Niere das Primäre ist. Die Eliminationstheorie ist daher wahrscheinlich richtig.

Man kann aber doch kaum (vgl. Cremers[1]) Bemerkungen hierüber) die Rolle der Niere als eine rein passive auffassen. Es handelt sich wohl nicht allein um eine gesteigerte Durchlässigkeit. Wenn man bedenkt (Tabelle V), daß die Zuckerkonzentration im Harn auf dem Gipfel der Glucosurie (und der Diurese) 40 bis 80mal größer ist als die Zuckerkonzentration im Blute, müßten, um eine einfache Filtration nebst nachfolgender Rückresorption anzunehmen, in jeder Stunde etwa 400 bis 500 ccm Flüssigkeit ($^1/_4$ bis $^1/_5$ des Gewichts des Tiere) rückresorbiert werden, was als nur wenig wahrscheinlich zu betrachten ist (Bock[2]). Ohne mich näher auf diese Frage einzulassen, glaube ich, daß man anzunehmen hat, die Elimination des Zuckers erfolge mittels einer echten Sekretion[3]).

Es läßt sich gegen die Eliminationstheorie das Argument anführen, daß während der Phlorizinvergiftung keine Hypoglykämie eintritt. Dies kann indes dadurch seine Er-

[1]) l. c.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 57, 191, 1907.

[3]) Trambusti und Nesti (Zieglers Beitr. 14) und Seelig (Deutsche med. Wochenschr. 1900, 705) wiesen nach, daß nach längerer Phlorizinvergiftung Nekrose der Tubuli contorti, dagegen keine Nekrose der Glomeruli und der Tubuli recti eintritt. Sie glauben deswegen, daß das Phlorizin durch die erstgenannten ausgeschieden werde.

klärung finden, daß eine parallel verlaufende Zuckerproduktion ausgelöst wird.

Ohne eine solche kompensierende Zuckerproduktion wird es — wie schon Zuntz[1]) behauptete — überhaupt unmöglich sein, die beträchtliche Zuckerausscheidung zu erklären. Die normale Blutzuckermenge eines Kaninchens beträgt im ganzen ca. 10 bis 15 cg. Gäbe nun das Blut seine gesamte Zuckermenge ab, so würde das doch kaum für die erste Stunde nach der Phlorizininjektion genügen. Und nun bleibt die Blutzuckerkonzentration unverändert!

Bang[2]), der diese Frage eingehend erörtert, deutet auf die interessante Analogie hin, die in der von Bock[3]) und Hald[4]) nachgewiesenen konstanten Kaliumkonzentration im Blute liegt, welche ein sehr empfindliches Regulierungsvermögen voraussetzen muß. Es läßt sich sehr wohl annehmen, daß ein ähnliches Regulierungsvermögen mit Bezug auf den Zucker vorhanden wäre. Bangs Untersuchungen zeigen, daß die kompensierende Zuckerproduktion wahrscheinlich von einem Glykogenumsatze in der Leber herrührt. Seine Versuche ergeben, daß während der ersten Stunde nach der Phlorizininjektion keine wesentliche Zunahme der Fermentproduktion in der Leber stattfindet, während in der zweiten Stunde eine geringe Zunahme eintritt, die mit der Elimination des Blutzuckers in Beziehung zu setzen ist. Meine Versuche bewegen sich in derselben Richtung. Man hat eine Zuckerproduktion in der Leber anzunehmen, mittels derer die Blutzuckerkonzentration sich auf der normalen Höhe erhält, die aber rein sekundär ist (Regulierungserscheinung), denn sonst müßte diese Zuckerproduktion sich in den kombinierten Versuchen zu der durch den Aderlaß bewirkten Zuckerproduktion addieren, was aber nicht der Fall ist, oder jedenfalls nur, wenn die Zuckerausscheidung so stark wird, daß das Blut sonst an Zucker verarmen würde.

Man könnte den Einwurf gegen meine Konklusionen über den Mechanismus der Phlorizinglucosurie erheben, daß nach

[1]) l. c.
[2]) l. c. 315 bis 317.
[3]) l. c.
[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 53, 227.

Aderlaß phlorizinvergifteter Tiere auf der Höhe der Glucosurie (s. Tabelle VI) eine kleine Steigerung der Blutzuckerkonzentration stattfinde. Dies widerstreitet doch nur scheinbar den vorgebrachten Anschauungen. Man hat sich hier zu erinnern, daß zur „Blutzuckermenge" die nicht gärungsfähigen, reduzierenden Substanzen (der „Restzucker") mitgerechnet werden, N. Andersson fand, daß der „Restzucker", dessen normale Menge ca. 0,03% beträgt, nach dem Aderlasse in fast demselben Verhältnisse ansteigt wie die Glucose. Auf der Höhe der Hyperglykämie fand er durchschnittlich 0,07% (in einigen Fällen 0,11 bis 0,12%) „Restzucker". Es ist daher sehr wohl denkbar, daß es normale Werte des „Blutzuckers" geben könnte, selbst wenn die Glucose völlig verschwunden ist. Letzteres ist doch wohl nie der Fall — wenigstens im Blute der Carotis —; es ist aber klar, daß die nach dem Aderlaß nach der zweiten Phlorizinstunde (Tabelle VI) gefundenen kleinen Blutzuckersteigerungen (0,02 bis 0,04%) sich sehr wohl als maskiertes Sinken der Glucosekonzentration des Blutes auffassen lassen. Zur Aufklärung dieser Frage führe ich die beiden folgenden Versuche an.

Tabelle IX.

Nr. des Versuchs	Zeitpunkt nach der Phlorizininjektion	1. Aderlaß		2. Aderlaß		Steigerung des Totalzuckers	Steigerung der Glucose
		vor der Gärung %	nach der Gärung %	vor der Gärung %	nach der Gärung %	%	%
35	4½ St.	0,07	0,02	0,09	0,04	0,02	0
38	12 „	0,09	0,02	0,07	0,02	÷ 0,02	÷ 0,02

Der gärungsfähige Zucker des Carotisblutes war nicht geschwunden, anderseits bewirkte aber der Aderlaß nicht die geringste Zunahme desselben. In dem einen Falle (Nr. 35) ist die Steigerung der Blutzuckermenge einzig und allein einer Zunahme des „Restzuckers" zu verdanken. Diese Versuche stützen mithin die Annahme, daß die Nieren auf der Höhe der Vergiftung sämtlichen zugeführten Traubenzucker ausscheiden.

Das Nierenblut muß zu diesem Zeitpunkte, praktisch genommen, seinen gesamten Glucosegehalt ab-

geben. Ohne diese Annahme würde die geschwinde Überführung des Zuckers aus dem Blute in den Harn undenkbar sein. Folgende Berechnung veranschaulicht dies: Wir sahen, daß die Blutzuckermenge während der Phlorizinvergiftung $^1/_2$ Stunde nach dem Aderlasse nicht zugenommen hat. Während derselben Zeit sind ca. 30 cg Glucose im Harn ausgeschieden worden (siehe Tabelle VIII). Rechnet man die Blutmenge eines 2 kg wiegenden Kaninchens = 100 bis 140 g (höchstens), und rechnet man $^3/_4$ der Blutzuckermenge = Glucose (N. Andersson), so hat man

Totalreduktion		hiervon Glucose
Blutzuckermenge vor dem Aderlaß	0,13% = ca. 16 cg	ca. 12 cg
Blutzuckerzunahme nach dem Aderlaß	0,20% = ca. 24 cg	ca. 18 cg
	Im ganzen	ca. 30 cg
÷ Glucose, während 30 Min. im Harn ausgeschieden		ca. 30 cg
	Rest	0

Die Zuckerausscheidung im Harn ist also so groß, daß sie nicht nur den ursprünglichen Zuckergehalt des Blutes, sondern auch die gesamte nach dem Aderlasse zugeführte Zuckermenge absorbiert. Bedenkt man, wie geschwind dieses geschieht, so muß man annehmen, daß das Nierenblut an Zucker verarmt. Wenn das Carotisblut trotzdem normale Zuckerwerte zeigt, so ist dies, wie oben erwähnt, ein Beweis, daß eine Regulierung stattfindet. Wenn diese Regulierung zerstört wird (vielleicht bei spärlichen Kohlenhydratdepots), so kann man erwarten, daß eine Hypoglykämie eintritt. Dies mag die Ursache gewesen sein, weshalb einige Autoren gelegentlich während der Phlorizinvergiftung Hypoglykämie fanden.

Wirken das Phlorizin und das Phloretin in identischer Weise?

In engem Zusammenhang mit der obigen Diskussion steht die Frage, ob das Phlorizin und das Phloretin in derselben Weise wirken. Ist dies nämlich nicht der Fall, so wird hierdurch Minkowskis Vehikeltheorie widerlegt (siehe die Einleitung). Bang[1]) hat nun dargetan, daß das Phloretin

[1]) Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 318, 1907.

im Gegensatz zum Phlorizin sofort eine bedeutende Steigerung der Fermentproduktion in der Leber bewirkt[1]). Ferner fand er in 2 Versuchen, wo er die Phloretinvergiftung mit Piqûre kombinierte, daß die Blutzuckerzunahme freilich nicht so groß wie nach Piqûre allein wurde, jedoch bedeutend stärker war als nach Phlorizininjektion und Piqûre. Dies spricht ebenfalls dafür, daß das Phloretin eine starke Zuckerproduktion in der Leber bewirkt. Das Phlorizin und das Phloretin üben mithin nicht dieselbe Wirkung aus.

Es gelang mir, dies von einer anderen Seite zu beleuchten, indem ich mit ähnlicher Technik wie bei meinen Phlorizinversuchen eine Reihe von Versuchen unternahm, in welchen das eingespritzte Phlorizin mit einer geringen Menge Phloretin gemischt worden war.

Während ich bei den Phlorizinversuchen 0,75 g Phlorizin injizierte, verwandte ich bei diesen Versuchen 0,6 g nicht-dekomponiertes Phlorizin + 0,15 g dekomponiertes Phlorizin (d. h. ca. 10 cg Phloretin + ca. 5 cg Glucose). In beiden Fällen war die Injektionsdosis in 15 ccm einer schwachen Sodalösung gelöst worden. Die Dekomposition wurde dadurch allein bewerkstelligt, daß eine 1% Na_2CO_3 enthaltende Phlorizinlösung (2%) stehen blieb. Die abgespaltene Zuckermenge wurde durch Titrierung bestimmt, und das Resultat diente zur Grundlage für die Berechnung der Phloretindosis. Frische Lösungen des angewandten Phlorizinpräparats in sodahaltigem Wasser reduzierten nicht.

Das Resultat der Blutzuckerbestimmungen nach diesen Injektionen ist aus Tabelle X ersichtlich.

Tabelle X.

Datum	Nr.	Gewicht g	Zeit nach der Injektion Min.	Blutzucker %	Leberglykogen	Bemerkungen
13. IV.	10	2300	17	0,18	ca. 12%	
11. „	8	2200	20	0,16	bedeutende Menge	
7. „	4	1000	30	0,20	?	Intraperitoneale Injektion
16. „	12	2300	45	0,16	?	Ausgeschiedener Zucker 0,15g
9. „	6	2300	75	0,08	5 bis 6%	
14. „	11	2300	125	0,12	?	

[1]) Die abweichenden Resultate, zu denen Wohlgemuth und Benzur (diese Zeitschr. 21, 460, 1909) gelangten, sind nicht imstande, Bangs Angaben zu entkräften. Wohlgemuth und Benzur lassen nämlich ihre Versuchstiere verbluten, wodurch sie ein Moment einführen, das (vgl. Bang) auf die Versuchsresultate wesentlichen Einfluß übt.

Es erfolgt also eine initiale Steigerung der Blutzuckerkonzentration, die man in den reinen Phlorizinversuchen nicht antrifft. Diese schwindet jedoch schnell, nachdem die Glucosurie in Gang gekommen ist. Schon 1 Stunde nach der Injektion findet man normale Blutzuckerwerte, was bereits von Bang angegeben wird, der zu diesem Zeitpunkte durchschnittlich 0,13% Blutzucker fand.

Durch Kombination der Phloretin-Phlorizininjektion mit dem Aderlaß gelangte ich zu folgenden Resultaten:

Tabelle XI.

Nr.	Aderlaß-intervall	2. Aderlaß. Zeit nach der Inj. Min.	1. Aderlaß. Blutzucker %	2. Aderlaß. Blutzucker %	Absolute Steigerung %
12	30	95	0,16	0,41	0,25
6	35	110	0,08	0,30	0,22
8	60	80	0,16	0,37	0,21

Obschon die Glucosurie in allen Fällen eine starke war, erreicht die Aderlaßhyperglykämie dennoch ihre volle Höhe. Hieraus läßt sich folgern, daß die Zuckerproduktion wesentlich zugenommen hat. Die Ursache ist nämlich nicht die, daß die Zuckerausscheidung (wegen der etwas kleineren Phlorizindosis) geringer ist. In einem Versuche (Nr. 11) wurden im Laufe von 8 Stunden 5 g Glucose im Harn ausgeschieden, während die Zuckerausscheidung in den reinen Phlorizinversuchen im Laufe von 8 Stunden durchschnittlich 2,5 g betrug.

Die Resultate stehen mithin in scharfem Gegensatze zu den Resultaten der reinen Phlorizinversuche (Tab. IV, V, VI). Selbst wenn die Versuche so wenig zahlreich sind, daß sie fortgesetzte Untersuchungen erwünscht machen, scheinen sie doch, mit Bangs oben zitierten Versuchen zusammengehalten, den Beweis zu liefern, daß das Phloretin (sogar in geringer Menge und im Verein mit Phlorizin injiziert) die Zuckerproduktion in der Leber primär vergrößert und mithin in ganz anderer Weise als das Phlorizin wirkt. Man kann demzufolge die Richtigkeit der Vehikeltheorie nicht anerkennen.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse meiner Versuche haben dargetan, daß die Phlorizinglucosurie nicht von einer primären (hepatogenen oder renalen) Zuckerproduktion herrührt, und daß Minkowskis Vehikeltheorie sich nicht aufrecht erhalten läßt. Anderseits zeigen sie, daß die Zuckerausscheidung bei normaler Blutzuckerkonzentration erfolgt, und daß der Zucker dem Blute entnommen wird. Durch Steigerung der Zuckerproduktion mittels Aderlasses zu verschiedenen Zeitpunkten der Phlorizinvergiftung hat es sich erwiesen, daß die Zuckerausscheidung einem gesteigerten renalen Zuckereliminationsvermögen zu verdanken ist, das parallel zur Phlorizinausscheidung zunimmt und dessen Maximum mit dem der letzteren zusammenfällt. Der Mechanismus der Phlorizinglucosurie ist deshalb wahrscheinlich auf folgende Weise aufzufassen:

Der sogenannte Phlorizindiabetes entsteht als Folge eines vorübergehenden, durch die Passage des Phlorizins durch die Nieren hervorgerufenen, abnormen renalen Zuckereliminationsvermögens. Dieses ist vermutlich näher als eine „echte Sekretion" zu charakterisieren. Der Zucker wird dem Nierenblute während der Passage desselben entnommen. Da die Zuckerkonzentration des Carotisblutes während der Glucosurie nicht abnimmt, erfordert diese Theorie eine sekundäre, kompensatorische Zuckerproduktion (in der Leber). Eine solche hat Bang früher nachgewiesen. Es liegen keine Gründe vor, eine extrarenale Phlorizinwirkung als bei der Glucosurie mitbetätigt anzunehmen; das Maximum der Glucosurie fällt mit dem Gipfel der Phlorizinausscheidung zusammen und diese hört gleichzeitig mit (oder kurz nach) dem Aufhören der Ausscheidung auf.

Über das Vorkommen von Cholesterinestern in der menschlichen Epidermis und die Reaktionen derselben.

Von

E. Salkowski.

(Eingegangen am 9. Dezember 1909.)

In ihrer Arbeit; „Die Hautfette" schreiben Unna und Golodetz[1]) unter Punkt 4 der Ergebnisse, l. c. S. 501:

„Es gibt unter den Bestandteilen der Hautfette Cholesterinester, deren Vorhandensein man früher irrtümlich auf Grund des positiven Ausfalls der Cholestolreaktion annahm, welche in dieser Arbeit aber zum erstenmal sicher qualitativ und quantitativ nachgewiesen wurden."

Demgegenüber weise ich darauf hin, daß ich in den „Arbeiten aus dem Pathologischen Institut zu Berlin", Verlag von A. Hirschwald 1906, aus ca. 4 g Epidermisschuppen, die von einem Falle von Dermatitis exfoliativa stammten und mir von Herrn Geh.-Rat Prof. Lesser freundlichst überlassen worden waren, Palmitinsäurecholesterinester dargestellt und den Befund völlig sichergestellt habe. Ich lege auf den Befund Wert, weil bis dahin Cholesterinester beim Menschen überhaupt nicht nachgewiesen waren. Zum Beleg meines Anspruches lasse ich die Hauptangaben, l. c. S. 574, folgen.

„Die Hautschuppen wurden mit ca. 200 ccm 90%igen Alkohol ausgekocht, der Auszug heiß filtriert. Beim Erkalten schied sich sofort in anscheinend reichlicher Menge eine weiße krystallinische Substanz aus, welche alsbald abfiltriert, mit Alkohol gewaschen, abgepreßt, aus Alkohol umkrystallisiert und an der Luft, bzw. über Schwefelsäure getrocknet wurde. Das Gewicht betrug 0,1504 g.

---

[1]) Diese Zeitschr. 20, 469.

Der Schmelzpunkt der Substanz, welche nach dem Trocknen eine schneeweiße, seidenglänzende, aus ineinander verfilzten Nadeln bestehende, zusammenhängende Masse darstellte, lag bei 77 bis 78° in Übereinstimmung mit dem Schmelzpunkt des Palmitinsäure-Cholesterinesters nach Hürthle. Die Reaktionen glichen denen des Cholesterins, waren jedoch in den Einzelheiten etwas abweichend, bzw. weniger ausgesprochen, wie es Hürthle auch für den Ölsäureester angibt.

Die Elementaranalyse ergab folgendes:

0,1206 g gaben 0,3644 g CO_2 und 0,1350 g H_2O. Daraus berechnen sich 82,41% C und 12,43% H. Diese Zahlen stimmen vortrefflich mit den von Hürthle für den Palmitinsäureester aus Blutserum gefundenen: C 82,46%, H 12,54%, auch noch befriedigend mit der Theorie, wenn man dem Cholesterin die ältere Formel $C_{26}H_{44}O$, dem Palmitinsäureester danach die Formel $C_{42}H_{74}O_2$ zugrunde legt, welche erfordert C 82,62%, H 12,13%; etwas weniger gut, wenn man für das Cholesterin die neuere Formel $C_{27}H_{44}O$ benutzt, für den Palmitinsäureester $C_{43}H_{74}O_2$ (dieselbe würde erfordern C 82,95%, H 11,89%); jedenfalls aber besteht nicht der mindeste Zweifel, daß die untersuchte Substanz in der Tat der Palmitinsäureester des Cholesterins war."

Ich wüßte nicht, was man gegen diesen Nachweis einwenden wollte; wenn die Autoren aber Einwendungen gegen meine Beobachtungen, die sie kannten, zu erheben hatten, so hätten sie sie machen sollen; dieselben mit Stillschweigen zu übergehen, scheint mir kein richtiges Verfahren zu sein.

Was übrigens die quantitative Bestimmung der Cholesterinester neben freiem Cholesterin betrifft, so scheint mir die Methode von Unna und Golodetz, die sich auf Beobachtungen der Intensität der Absorptionsstreifen der Cholestolreaktion im Spektrum vor und nach der Verseifung stützt, recht anfechtbar: auf die Beobachtung von Intensitätsunterschieden von Absorptionsstreifen kann man meiner Ansicht nach quantitative Bestimmungen überhaupt nicht gründen.

Meine zitierte Arbeit beschäftigt sich ferner mit der künstlichen Reindarstellung des Palmitinsäureesters. S. 580 heißt es:

„Im Besitze von reinem Palmitinsäurecholesterinester habe ich die Gelegenheit benutzt, um die Reaktionen im Vergleich zum Cholesterin selbst festzustellen, da Originalangaben hier-

über meines Wissens nicht vorliegen. Es ergab sich folgendes: Für die Probe von C. Liebermann (Zusatz von Schwefelsäure zu der Lösung in Essigsäureanhydrid), sowie für die Burchardsche Modifikation derselben (Lösen in Chloroform, Zusatz von etwas Essigsäureanhydrid und vorsichtiger Zusatz von Schwefelsäure), endlich für die kürzlich von Neuberg und Rauchwerger beschriebene sehr schöne und bequeme Reaktion (Zusatz von Rhamnose oder δ-Methylfurfurol zur alkoholischen Lösung, dann Schwefelsäure: Himbeerfärbung) habe ich keine Unterschiede zwischen Cholesterin und Palmitinsäureester desselben feststellen können. Man muß sich bei der Beurteilung davor hüten, auf geringfügige Differenzen im Verlaufe der Reaktion Wert zu legen, da diese durch Unterschiede in der Konzentration der Lösung, in den relativen Verhältnissen zwischen der Quantität der Lösung und der Schwefelsäure, in der Schnelligkeit des Zusatzes dieser, der Temperatur usw. begründet sein können, ein Sachverhältnis, auf das schon Liebreich gegenüber den Angaben von Santi hingewiesen hat."

Demgegenüber behaupten die genannten Autoren, l. c. S. 483 und 484, daß cholesterinfreier Cholesterinester die Liebermannsche Cholestolreaktion nicht gebe. Ich halte meine oben zitierten Angaben in allen Punkten aufrecht.

Beiträge zur Frage der Glykolyse.

1. Die Alkaliempfindlichkeit des Traubenzuckers.

Von

L. Michaelis und P. Rona.

(Aus dem biochemischen Laborat. des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 16. Dezember 1909.)

Der für die Physiologie des Stoffwechsels so überaus wichtigen Forschung über das glykolytische Ferment stehen heute zwei Schwierigkeiten im Wege, die den Fortschritt der Erkenntnis in verhängnisvoller Weise gehindert haben. Die eine Schwierigkeit ist die exakte Zuckerbestimmung in zuckerarmen und eiweißreichen Flüssigkeiten, besonders Organsäften, die zweite die Unmöglichkeit, den spontanen Zuckerverlust durch die Alkaliwirkung der Gewebe von dem fermentativen Abbau des Zuckers zu unterscheiden. Die erste Schwierigkeit glauben wir durch die Einführung unserer Enteiweißungsmethoden, die je nach dem Material entsprechend modifiziert werden können, beseitigt zu haben. Mit der anderen Schwierigkeit wollen wir uns jetzt beschäftigen.

Die Empfindlichkeit der Glucose gegen Alkalien ist seit langem bekannt. Die Untersuchungen von Lobry de Bruyn[1]) haben gezeigt, daß Glucose durch den Einfluß von Alkalien (Soda, Natronlauge) ihre optische Aktivität fast ganz verliert, ohne jedoch eine entsprechende Abnahme des Reduktionsvermögens zu erleiden. Als Ursache dafür konnte er die partielle, zu einem Gleichgewicht führende Umwandlung der Glucose in Fructose und Mannose nachweisen. Als Resultat ergibt sich so ein optisch fast inaktives Gemisch mit einem gegen den Anfang nicht oder kaum verminderten Gesamtzuckergehalt.

Diejenige Arbeit aber, auf die sich viele neuere Zusammenfassungen über Glykolyse immer und immer wieder

[1]) C. A. Lobry de Bruyn und W. Alberta van Ekenstein, Rec. trav. chim. des Pays Bas. 14, 103.

berufen, ist die von Bendix und Bickel[1]). Diese behaupten nämlich, daß der Alkaligehalt, wie er im Blut und in den Geweben ist, in relativ kurzer Zeit ohne jede Fermentmitwirkung bei den physiologisch in Betracht kommenden Konzentrationen Zucker zerstöre.

Sie sagen: „In 0,2% bis 0,5% reinen, wässerigen Sodalösungen — Blutalkalescenz — wird Traubenzucker in erheblichen Mengen bei Bruttemperatur zerstört. So z. B. fanden sich nach 36stündigem Stehen im Brutschrank unter Anwendung einer 0,28%igen Sodalösung statt 70 mg nur 64 mg Dextrose ...“ (durch Reduktion bestimmt).

Wenn diese Angaben und vor allem ihre Deutung richtig sind, so hätten wir bei dem Studium der Glykolyse in der Tat eine große Schwierigkeit; wir müßten in jedem Fall die Alkaliwirkung genau kennen, um eine etwaige Fermentwirkung sicher beurteilen zu können.

Wir wollen nun zunächst die Wirkung von Alkalien auf die Drehung von Zuckerlösungen an einigen Beispielen zeigen.

Tabelle I.

H^+-Ionenkonzentration	1% Zucker in:	Drehung nach 24 Std. (37°, Toluol)
0,4. 10^{-14}	$^n/_2$-NaOH	(gebräunt)
1. 10^{-13}	$^n/_{10}$- „	(stark gelb)
1. 10^{-12}	$^n/_{100}$- „	0,13%
Zwischen 10^{-12} und 10^{-11}[2])	$^n/_2$-Soda	0,17%
	$^n/_{10}$- „	0,34%
	$^n/_{100}$- „	0,82%
ca. 10^{-7}	reines Wasser	1,00%

Wir finden nach Tabelle I in der Tat eine starke Verminderung der Drehung, die in 24 Stunden fast auf $^1/_{10}$ des ursprünglichen Wertes heruntergeht. Wenn man nun aber den Zuckergehalt dieser fast nicht mehr drehenden Lösung durch eine Reduktionsmethode bestimmt, so erhält man Werte, die überhaupt keinen irgendwie nennenswerten Zuckerverlust ergeben. Die Lösung gab starke Fructosereaktion. Es handelt sich also nicht um einen Abbau des Zuckers, sondern um die von Lobry de Bruyn gefundene partielle Umwandlung in Lävulose bzw. Mannose.

[1]) Bendix und Bickel, Krit. Beitrag zur Lehre v. d. Glykolyse. Deutsche med. Wochenschr. 1902, S. 3.

[2]) Mit Indicatoren geschätzt (Naphtholbenzoin und Nilblau).

Tabelle II.

a) 10%ige Zuckerlösung in $^n/_{10}$-Sodalösung bei 37° (Toluol).

	Drehung %	Reduktion %
Zu Beginn	10,0	10,0
Nach 2 Tagen . .	4,28	
„ 8 „ . .	2,66	
„ 11 „ . .	1,96	9,50

b) 1%ige Zuckerlösung in $^n/_{10}$-Sodalösung.

	Drehung %	Reduktion %
Zu Beginn	1,00	
Nach 1 Tag . . .	0,34	
„ 2 Tagen . .	0,06	
„ 5 „ . .	0,06	0,87

Nun müssen wir aber bedenken, daß es heutzutage als ein erheblicher Irrtum betrachtet werden muß, wenn man dem Blute die Alkalescenz einer verdünnten Sodalösung zuschreibt. Für die Wirkung auf den Zucker kommt natürlich nur die Konzentration der OH-Ionen in Betracht und nicht die Titrationsalkalescenz. Denn nur die wirklich vorhandenen OH-Ionen können in Wirksamkeit treten, nicht aber diejenigen OH-Ionen, die bei der künstlichen Manipulation des Titrierens gleichsam neu entstehen und sich nicht ursprünglich in der Lösung vorfinden. Nun ist die Alkalität des Blutes definiert durch eine H-Ionenkonzentration von $0{,}3 \cdot 10^{-7}$ normal. Wir müssen also diese Alkalität in ihrem Verhalten gegen Zucker prüfen, und nicht die um mehrere Zehnerpotenzen davon verschiedene Alkalität einer Sodalösung. Künstlich können wir diese niederen Alkalitätsgrade durch Mischung von primärem und sekundärem Natrium- oder Kaliumphosphat herstellen.

Es zeigt sich nun, daß in Lösungen von derartiger, ja sogar noch etwas höherer Alkalität, etwa wie in einem Blute, welches durch Entweichen von Kohlensäure schon abnorm alkalisch geworden ist,[1]) in 24 Stunden überhaupt keine Abnahme der Drehung festzustellen ist.

[1]) L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. 18, 317, 1909; s. bes. S. 327.

Tabelle III.

37°, Toluol.

H^+-Ionen-Konzentration*)	n/2 primäres Kaliumphosphat ccm	n/2 sekund. Natriumphosphat ccm	Wasser ccm	5% Zuckerlösung ccm	Drehung nach 24 Std. bei 37° in %
[1])ca. 10^{-9}	0	10	30	10	1,01
$1{,}3.10^{-8}$	0,5	9,5	30	10	1,04
$2{,}4.10^{-7}$	5,0	5,0	30	10	1,01
$4{,}6.10^{-6}$	9,5	0,5	30	10	1,00
				Drehung vorher:	1,00

Tabelle IIIa.

37°, Toluol.

H^+-Ionen-Konzentration*)	n/7 primäres Natriumphosphat ccm	n/7 sekund. Natriumphosphat ccm	Wasser ccm	10% Zuckerlösung ccm	Drehung nach 24 Std. %
[1])ca. 10^{-9}	0	10	38,5	2,5	0,49
$2{,}7.10^{-8}$	1	9	38,5	2,5	0,50
$2{,}4.10^{-7}$	5	5	38,5	2,5	0,50
$2{,}2.10^{-6}$	1	9	38,5	2,5	0,51
[1])ca. 10^{-5}	0	10	38,5	2,5	0,49
			Drehung vor Beginn des Versuches:		0,50

Den Übergang zu stärkeren Alkalien bilden nun Gemische von Ammoniak mit Ammoniumchlorid.

Tabelle IV.

37°, Toluol.

H^+-Ionen-Konzentration*)	0,1 n NH_3	0,1 n $ClNH_4$	Wasser	5% Zuckerlösung	Drehung nach 1 Tag %	Drehung nach 5 Tagen %
$0{,}8.10^{-11}$	10	0	30	10	0,90	0,79
$1{,}7.10^{-10}$	9	1	30	10	0,94	0,75
$1{,}5.10^{-9}$	5	5	30	10	1,02	0,91
$1{,}4.10^{-8}$	1	9	30	10	1,02	0,97
			ursprüngliche Drehung:		1,02	

*) Die der Blutalkalescenz am nächsten stehende Reaktion in jeder Tabelle ist fettgedruckt.

Bei dieser stärkeren Alkalität sehen wir, wie je nach dem Grade derselben die Drehungsänderung in 24 Stunden schon mehr oder weniger merklich ist.

[1]) Die Reaktion des „reinen" sekundären oder primären Phosphats ist nicht vollkommen scharf zu definieren. Siehe Anhang.

Es ist nicht die Absicht dieser Arbeit, die Veränderung des Zuckers bei wechselndem Gehalt an Alkali einer genauen Analyse zu unterziehen. Für uns kommt es nur auf die Feststellung an, daß die Alkalität des Blutes in den für glykolytische Versuche in Betracht kommenden Zeiten keinerlei analytisch nachweisbare Verluste an Traubenzucker hervorruft.

Anhang.

Über die Herstellung von Lösungen bestimmter Reaktion um den Neutralitätspunkt herum.

Bei der allgemeinen Wichtigkeit, welche die Berechnung der H^+-Ionenkonzentration in den hier angewandten „Reaktionsregulatoren" hat, möchten wir wenigstens die wichtigsten kurz beschreiben.

Bei einem Gemisch von primärem und sekundärem Phosphat ist die Grundlage der Berechnung die Dissoziationsgleichung des Phosphorsäureions:

$$k_2\,[H_2PO_4'] = [H^\cdot].[HPO_4'']$$

wo k_2 die Dissoziationskonstante der Phosphorsäure in der zweiten Stufe ist. Sie beträgt für 37° $2{,}4 \cdot 10^{-7}$, für 18° $2 \cdot 10^{-7}$. In einem Phosphatgemisch ist nun die Konzentration der einwertigen Phosphorsäureionen angenähert gleich der des gelösten primären Phosphats, die der zweiwertigen gleich der des sekundären. Daraus folgt (für 37°):

$$[H^\cdot] = 2{,}4 \cdot 10^{-7} \cdot \frac{[\text{primäres Phosphat}]}{[\text{sekundäres Phosphat}]}.$$

In einem Gemisch von Essigsäure und Natriumacetat berechnet sich $[H^\cdot]$ aus der Gleichung:

$$k\,[CH_3COOH] = [H^\cdot].[CH_3COO']$$

wo k (für 18° und für 37°) $= 1{,}8 \cdot 10^{-5}$.

Nun ist die Konzentration der Acetationen angenähert gleich der des Natriumacetats, die der undissoziierten Essigsäure fast genau gleich der der Essigsäure überhaupt. Daraus folgt

$$[H^\cdot] = 1{,}8 \cdot 10^{-5} \cdot \frac{[\text{Essigsäure}]}{[\text{Natriumacetat}]}.$$

Bei einem Gemisch von Ammoniak mit Chlorammonium folgt durch ganz ähnliche Überlegung zunächst

$$[OH'] = k \cdot \frac{[\text{Ammoniak}]}{[\text{Chlorammon}]},$$

k ist für $18^0 = 1{,}8 \cdot 10^{-5}$, für $37^0 = 2{,}0 \cdot 10^{-5}$. Um daraus $[H^\cdot]$ zu berechnen, beachte man, daß $[H^\cdot] = \frac{k_w}{[OH^\cdot]}$, wo k_w für $18^0 = 0{,}64 \cdot 10^{-14}$, für $37^0 = 3 \cdot 10^{-14}$ ist. Daraus folgt

$$[H^\cdot] = \frac{k_w}{k} \cdot \frac{[\text{Chlorammon}]}{[\text{Ammoniak}]}.$$

Fassen wir die beiden Konstanten zusammen, so ergibt sich

$$[H^\cdot] = K \cdot \frac{[\text{Chlorammon}]}{[\text{Ammoniak}]},$$

wo K für $18^0 = 0{,}36 \cdot 10^{-9}$, und für $37^0 = 1{,}5 \cdot 10^{-9}$ ist.

Diesen Berechnungen wurden Ansätze und Konstanten entnommen, z. T. interpoliert aus den Arbeiten von Fels[1]), Salesski[2]), Henderson[3]), Lundén[4]). Es eignen sich:

Ammoniakgemische zur Herstellung von $[H^\cdot]$ zwischen 10^{-10} und 10^{-7};

Phosphatgemische zur Herstellung von $[H^\cdot]$ zwischen 10^{-8} und 10^{-6};

Acetatgemische zur Herstellung von $[H^\cdot]$ zwischen 10^{-7} und 10^{-4}.

Die Reaktion von reinem primärem Phosphat und von reinem sekundärem Phosphat läßt sich ebenfalls auf etwas andere Weise leicht berechnen. In solchem Falle ist die Reaktion nicht mehr ganz unabhängig von der Konzentration des Salzes. Jedoch ist es schwierig, in Wirklichkeit z. B. ein von primärem Phosphat so vollkommen gereinigtes sekundäres Phosphat zu erhalten, daß die Rechnung ihre Gültigkeit bewahrt. Man vermeide daher die reinen, ungemischten Phosphate als Reaktionsregulatoren.

Vor kurzem hat Sörensen[5]) eine ganze Reihe von Reaktionsregulatoren angegeben und mit Hilfe von Konzentrationsketten aufs Genaueste geaicht. Die so überaus bequemen Acetat- und Ammoniumgemische fehlen bei ihm. Bei einigen Stichproben erwies sich uns die wie oben berechnete Reaktion derselben innerhalb der Fehlerquellen als identisch mit der durch Konzentrationsketten gemessenen.

---

[1]) Fels, Stud. über Indicatoren. Zeitschr. f. Elektrochemie 10, 208, 1904.

[2]) Salesski, Stud. über Indictoren. Ebenda S. 204.

[3]) L. J. Henderson und O. F. Black. A Study of equilibrium between carbon. ac. etc. Americ. Journ. of Physiol. 21, 420, 1908.

[4]) Harald Lundén, Hydrolyses des sels etc. Journ. de Chem. Physique 5, 534, 1908.

[5]) Sörensen, Enzymstudien II. Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

Über die Entstehung des Milchzuckers.

Von

Ch. Porcher.

(Aus dem chemischen Laboratorium der tierärztlichen Hochschule in Lyon.)

(Eingegangen am 31. Oktober 1909.)

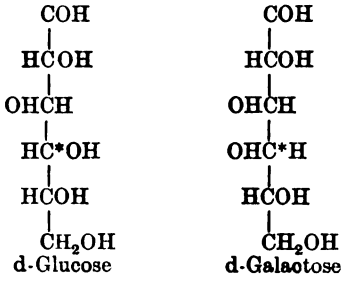
(Mit 12 Figuren im Text.)

Die Frage nach der Entstehung des Milchzuckers ist in den letzten Jahren der Gegenstand mehrerer Arbeiten gewesen, in welchen meine früheren Untersuchungen verschiedenen Kritiken unterworfen worden sind, auf die ich in der vorliegenden Mitteilung zurückkommen werde. Ich verweise besonders auf die augenfällige Übereinstimmung aller meiner, zum Teil übrigens noch nicht veröffentlichten Untersuchungen, und werde an Hand derselben auf die verschiedenen Punkte eingehen.

Der Milchzucker, $C_{12}H_{22}O_{11}$, ist ein Disaccharid, das in der Hitze durch verd. Mineralsäuren (HCl, H_2SO_4) oder ein spezielles Ferment, die Lactase, die gewöhnlich in der Darmschleimhaut junger Milchtiere reichlich vorhanden ist, durch Aufnahme eines Mol. Wassers gespalten wird unter Bildung gleicher Teile d-Glucose und d-Galaktose:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O = \underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6} + \underset{\text{Galactose.}}{C_6H_{12}O_6}$$

Diese beiden letzteren Zucker der gleichen Formel unterscheiden sich nur durch den stereochemischen Aufbau:



Die Rotation eines einzigen alkoholischen Hydroxyls um das mit * bezeichnete C-Atom ermöglicht den Übergang der Galaktose in Glucose. Eine solche Isomerisierung konnte durch chemische Mittel noch nicht verwirklicht werden. Die Untersuchungen von de Bruyn und von van Ekenstein[1]) haben wohl bewiesen, daß sehr verdünnte Alkalien mit Glucose wie mit Galaktose ein Gemisch von isomeren Aldehyd- und Ketonzuckern ergeben, und zwar hauptsächlich Mannose aus Glucose und Talose aus Galaktose, aber der Übergang der Glucose in Galactose kann auf solche Weise nicht erzielt werden.

Es ist indessen wahrscheinlich, daß in lebenden Organismen solche Isomerisierungen vorkommen werden; bei den Pflanzen ist die Tatsache nicht zweifelhaft, und so erklärt man sich das gleichzeitige Vorhandensein der drei Hexosen: Glucose, Lävulose und Mannose bei den Pflanzen, ferner des Disaccharids Saccharose, das durch Vereinigung zweier Hexosen entsteht, und der hochmolekularen Polysaccharide, die durch Kondensation aus Monosacchariden hervorgehen.

Ebenso wahrscheinlich ist es, daß in der in Tätigkeit befindlichen Brustdrüse eine Isomerisation von Glucose zu Galaktose stattfindet. Aber in welchem Augenblicke und unter welchen Bedingungen? Das ist eine zurzeit unmöglich zu beantwortende Frage.

Bei der Verbindung der Glucose mit der Galaktose zu Milchzucker verliert die Galaktose ihre reduzierenden Eigenschaften; die Aldehydgruppe des Milchzuckers gehört, wie E. Fischer gezeigt hat, dem Glucosereste an. Der Milchzucker kann also als ein Galaktosid der Glucose angesehen werden.

Während in vielen Fällen die physiologische Forschung auf zahlreiche Hindernisse bei dem Studium eines Organes stößt, muß man sagen, daß dieses bei der Brustdrüse nicht der Fall ist.

Denn die Brustdrüse ist ein leicht zugängliches Organ; ja ihre Funktion ist für das betreffende Individuum keineswegs notwendig, sie kann gänzlich durch Extirpation des sezernierenden Organs unterdrückt werden, ohne daß diese Operation der Gesundheit des Individuums schadet.

[1]) De Bruyn und van Ekenstein, Rec. des trav. chim. des Pays-Bas 14. 98, 156 u. 203; 16, 257, 262, 274.

Meine Versuche, in deren Verlaufe ich zur Entfernung der Brustdrüse geschritten bin, betreffen vier verschiedene Gattungen von Tieren: Meerschweinchen, Schaf, Ziege, Kuh. Diese verschiedenen Weibchen haben eines gemeinsam, sie besitzen nur zwei Drüsen — bei der Kuh ist jede in zwei Teile geteilt —, welche an einer verhältnismäßig kleinen Oberfläche der Bauchwand leicht beweglich hängen. Ihre Exstirpation ist leicht und schnell ausführbar.

Wir sind folgendermaßen dabei vorgegangen:

1. Meerschweinchen. Wir sind ungefähr der Operationstechnik von Marschall und Kirkness[1]) gefolgt.

Es wurden zwei Quereinschnitte, die sich an den Seiten treffen, gemacht, indem man die beiden Zitzen, die eine etwas vor, die andere ein wenig hinter ihrer Verbindungslinie erfaßt. Man zerteilt mit den Fingern das die Drüse umgebende Bindegewebe und gelangt so an das vasculo-nervöse Gewebe, das die Brust irrigiert und innerviert, und welches man nur zwischen zwei Ligaturen zu durchtrennen braucht: man schneidet zwischen diesen ein und löst so leicht das Drüsengewebe los, ohne die mindeste Spur davon in der Operationswunde zurückzulassen.

Wenn die Operation bei Weibchen während der Lactation gemacht wird, was noch besser bei Ziegen als bei Meerschweinchen geschieht, so wird durch die funktionelle Füllung der Drüsen die scharfe Abgrenzung noch deutlicher und die Isolierung erleichtert.

Die sie umschließende derbe Bindehaut ist genügend widerstandsfähig, um nicht unter dem Finger zu zerreißen. Die Befürchtung, das Organ zu verletzen, ist also unbegründet, und es ist mir niemals passiert, daß ein Austritt von Milch in die Operationswunde stattgefunden hätte.

So kann ich auch nicht die übrigens sonst sehr zurückhaltende Kritik von Herrn C. Foà[2]) anerkennen, nach der ich unvollständig operiert und die Umgebung verletzt hätte.

Man kann auch bei dem weiblichen Meerschweinchen die Brustdrüsen entfernen, indem man von jeder Seite der Mittellinie einen Einschnitt macht, durch welchen jede Drüse exstirpiert wird. Man läßt so eine ununterbrochene Hautbrücke zwischen den beiden Einschnitten; diese Methode hat keinen Vorzug vor der vorhergehenden, und ich habe nicht gefunden, daß sie die Vernarbung der Wunde besonders beschleunige. Auf alle Fälle sind die Folgen der Operation die einfachsten, wenn man alle denkbaren aseptischen Vorsichtsmaßregeln bei der Operation befolgt.

2. Ziege oder Schaf. Man macht einen kreisförmigen Einschnitt in die Haut, indem man die beiden Zitzen, und zwar ein wenig unter

---

[1]) Marshall und Kirkness, Biochem. Journ. II, Nr. 1 u. 2.

[2]) C. Foà, Archivia di Fisiologia 5, 533, 1908.

ihrer Basis, zusammenrafft; dann zerteilt man sehr schnell das Bindegewebe, welches die Haut von der Drüse trennt, um schleunigst zu dem vasculo-nervösen Strang zu gelangen, den man nach dem Unterbinden durchschneidet.

Ich habe zu einer solchen Operation nicht 4 Minuten gebraucht. Die Operation ist nicht schmerzhaft, nur der Einschnitt in die Haut und auch das Unterbinden des vasculo-nervösen Stranges rufen eine Reaktion bei dem Tiere hervor, die jedoch nicht anhält.

Die Schnelligkeit, mit welcher man beim Ausschneiden der Brustdrüse bei der Ziege oder beim Schaf vorgehen kann, weist also jeden Gedanken an übermäßige oder längere Massage der Drüse zurück.

Massage gibt M. Foà als Erklärung für den Zucker im Harn nach einer solchen Operation infolge Resorption des während der Narkose vorhandenen Milchzuckers an. Wenn es wirklich so wäre, würde der Harnzucker Lactose sein; wir werden aber alsbald sehen, daß es sich um Glucose handelt.

Ich habe nicht die Operation der Milchdrüsen bei allgemeiner Narkose vorgenommen, da meine beiden ersten diesbezüglichen Versuche 48 Stunden nach der Operation den Tod zur Folge hatten[1]). Um die Abnahme der Brustdrüsen in aller Ruhe bewerkstelligen zu können, hatte ich eine allgemeine Betäubung vermittelst Chloroform angewandt, und zwar in geringer Menge. Bald nach der Operation wurde die Atmung kurz und beschleunigt, und das Tier starb in Hypothermie nach 48 Stunden unter Erscheinungen eines heftigen Ödems der Lunge.

Träte dieser Ausgang nicht ein, so wäre trotzdem eine Anwendung von Chloroform nicht angezeigt; denn man weiß, daß man nach einer längeren Anästhesie, welches auch das angewandte Hilfsmittel ist, den Übergang von reduzierenden Substanzen, vielleicht von Glucose, aber besonders von Glucuronsäureverbindungen beobachten kann.

Die Anwendung des Chlorals wurde aus denselben Gründen verworfen, da das Chloral durch den Harn in Form der reduzierenden Urochloralsäure ausgeschieden wird, deren Vorhandensein die Untersuchungen über die Natur des Zuckers gestört haben würde, der sich nach Amputation der Brustdrüse im Harne findet.

Die Operation bei der Ziege und beim Schaf, besonders wenn man sie an einer in Tätigkeit befindlichen Milchdrüse vornimmt, läßt eine große, subcutane Wunde zurück, welche an den Seiten wegen der Beweglichkeit der Haut auf der Bauchwand nach vorn und nach hinten weitergeht, die aber sehr gut vernarbt; man nimmt die Auswaschung mit lauwarmem Wasserstoffsuperoxyd vor, das mit 3 oder 4 Volumen Wasser verdünnt ist; man vernäht mit einzelnen Stichen, und nachdem man die Reihe der Nähte gut abgetrocknet hat, deckt man mit Kollodium zu. Die Operation hat keine Folgen: kein Fieber, guter Appetit und regelmäßige Vernarbung, welche mit einem starken, aber schnell resorbierbaren Ödem einhergeht.

---

[1]) Ch. Porcher, Bulletin de la Société des Sciences vétérinaires de Lyon 1905, 147.

3. Kuh. Die Operation bietet bei der Kuh nicht mehr Schwierigkeiten als bei der Ziege; mein Versuchstier war eine kleine bretonische Kuh; die 8 bis 9 l Milch zur Zeit der Operation gab. Dieselbe wurde unter Beihilfe des leider verstorbenen Kollegen Herrn Prof. Mathis ausgeführt, wecher zuvor eine Injektion von Tropacocain ins Rückenmark machte. Die Anästhesie des hinteren Teils des Körpers war schnell und vollständig. Das Fortnehmen der Mamae konnte sich unter vorzüglichen Bedingungen vollziehen. Als Folgen der Operation ist nichts Besonderes zu erwähnen.

Wahl der Versuchstiere.

Die physiologische Forschung lehrt uns, daß die Untersuchung einer gegebenen Funktion nur bei solchen Tierarten stattfinden darf, bei welchen sie voll entwickelt ist. Das ist, wenn es sich um Milchdrüsen handelt, der Fall bei der Ziege, der Kuh und etwas weniger beim Schafe. Das weibliche Meerschweinchen ist ein sehr schlechtes Versuchstier für das Studium der Milchsekretion, und physiologische Gründe sprechen gegen die Wahl dieses Tieres in diesem besonderen Falle. Es ist ein sehr schlechtes Milchtier, man weiß vielmehr, daß die Zeit der Trächtigkeit eine sehr lange für ein Tier von so geringer Größe ist (63 bis 66 Tage), und daß die Kleinen, wenn sie zur Welt kommen, nur sehr wenig saugen; sie fressen sogar sofort.

Die Funktion der Brustdrüsen, welche man doch in gewisser Hinsicht als Ergänzung eines ungenügenden foetalen Lebens betrachten kann, ist hier also nicht notwendig. Gewiß gibt es Milch in der Brust nach der Geburt, aber sehr wenig, und es ist schwer, in den darauf folgenden wenigen Tagen einige Tropfen davon zu erhalten.

Ich habe mir indessen mit großer Mühe ein Kubikzentimeter davon bei zwei Weibchen verschaffen können, genügend, um die quantitativen Bestimmungen des Milchzuckers zu machen; ich habe 45 g pro Liter gefunden.

Nur pekuniäre Gesichtspunkte können für eine Wahl des Meerschweinchens bestimmend sein, denn besondere anatomische Gründe sind nicht vorhanden, und die Operation der Brustdrüsen ist nicht schwerer bei der Ziege als beim Meerschweinchen zu bewerkstelligen. Es ist klar, daß die pekuniären Gründe hinter der Klarheit der zu erhaltenden Resultate zurückstehen müssen; nun ist aber beim Meerschweinchen diese Klarheit nicht zu

erreichen. Aus all den von mir angeführten Gründen muß ich gegen die Herren Marschall und Kirkness geltend machen, daß sie nur mit Meerschweinchen experimentiert haben, und andererseits bedaure ich, daß Foà die Experimente der genannten Autoren in seiner Arbeit zu hoch eingeschätzt hat. Ich werde noch Gelegenheit haben, darauf zurückzukommen.

Die Methodik der Harnuntersuchung.

Der Wert, den man der Erklärung der experimentellen Tatsachen zuerkennen kann, ist eng verknüpft mit der Genauigkeit der Technik.

Denn nur wenn man eine Methodik hat, gegen die man keine Einwände erheben kann — und es gibt vielleicht keine unter diesen Bedingungen — oder doch wenigstens nur das Minimum von Einwänden, kann man seinen Schlüssen die nötige Bestimmtheit geben. Die Prüfung auf Zucker und seine quantitative Bestimmung läßt sich aber mit großer Genauigkeit und Sicherheit ausführen. Die Technik beruht auf der Klärung der zuckerhaltigen Flüssigkeiten durch Quecksilbernitrat. In der physiologischen Chemie stimmen die Forscher heute überein, daß diese Methode der Klärung die beste Analyse der verschiedensten zuckerhaltigen Flüssigkeiten (Harn, Blut, Milch) ist. Ich werde hier nicht alle die Einzelheiten der befolgten Technik anführen, und ich verweise auf die von mir hierüber veröffentlichten Abhandlungen[1]), welche die einschlägige Literatur enthalten. In denselben habe ich das Quecksilbernitrat mit dem bisher in der Harnanalyse angewandten Klärungsmitteln verglichen.

Ich lenke jedoch die Aufmerksamkeit auf die Schwierigkeit, die man bei quantitativen Bestimmungen und besonders beim Charakterisieren kleiner Mengen Zucker hat. Das Phenylhydrazin, welches ein ausgezeichnetes Reagens zur Erkennung der Zucker als Osazone bildet — in dieser Arbeit handelt es sich nur um Glucose nnd Milchzucker —, kann aber nicht vor einem Irrtum schützen, wenn nur sehr wenig Zucker vorhanden ist; man muß sich der zu lösenden Schwierig-

[1]) Ch. Porcher, Journ. de Médécine vétérinaire et zootechnie 1902, 31. août; 1902, 31. octobre; 1903, 30. avril; Société de Biologie 1906, 28. juillet.

keiten, die ich in zwei Abhandlungen auf den Kongressen für angewandte Chemie zu Berlin und Rom[1]) erwähnte, bewußt sein, um sie vermeiden zu können.

Unbedingt muß also jeder Autor die von ihm angewandte Methodik genau angeben. Dieses haben leider Moore und Parker[2]) einerseits, die Herren Marshall und Kirkness andererseits nicht getan.

Wenn man mit dem nicht geklärten und oft, wie z. B. stets bei der Ziege (Experimente von Moore und Parker), sehr dichten Tierharn arbeitet, kann eine kleine Menge Zucker bei der Untersuchung leicht unbemerkt bleiben.

Eigene Versuche.

Ehe ich zu den Einzelheiten meiner Experimente und den Bedingungen, unter welchen sie ausgeführt wurden, übergehe, ist es gut, sich der Tatsache zu erinnern, daß die Lactose ein Produkt der Milch und nur der Milch ist.

Die Lactose soll nach Braconnot[3]) in der Eichel des Eichenbaumes vorkommen, aber man hat bald erkannt, daß es sich hier um Quercit handelt. Es bleibt nun noch die Beobachtung von Bouchardat[4]) über das Vorhandensein des Milchzuckers im Saft des Breiapfelbaumes (Achras sapota), der aus Einschnitten in den Baum gewonnen ist. Es werden sicherlich neue Untersuchungen zur Klärung dieser Frage erfolgen.

Abgesehen von diesem letzten Fall ist der Milchzucker nur ein Produkt des Säugetierorganismus, und man findet ihn bei den Tieren nur in der Flüssigkeit der sezernierenden Brustdrüsen. Er rührt von der Arbeit der Drüse her, denn er existiert nicht in dem zur Drüse strömenden Blute. Ich erinnere zuerst an den Versuch von Claude Bernard, der Glucose in das Blut von säugenden Hündinnen und Kaninchen einspritzte und diesen Zucker in allen Sekreten außer in der Milch wiederfand.

Die Glucose durchdringt auch unter den extremsten pathologischen Verhältnissen niemals, ohne umgewandelt zu werden, die Schranke des Milchdrüsenepithels. Die Arbeiten von Storch, die Monvoisin[5]) zitiert, und diejenigen dieses letzteren Autors

[1]) Ch. Porcher, Internationaler Kongreß für angewandte Chemie, Berlin 1903, Rom 1906.

[2]) Moore u. Parker, The Amer. Journ. of Physiol. 4, 239, 1900/01.

[3]) Braconnot, Annales de Physique et Chimie (3) 27, 392, 1849.

[4]) Bouchardat, Compt. rend. 73, 462, 1871.

[5]) Monvoisin, Revue générale du Lait 5, 457 u. 492, 1905/06.

beweisen es deutlich; eine Milch von einer tuberkulösen Drüse wird mehr oder weniger Lactose enthalten, aber man kann dort nie Glucose finden.

Die Annahme einer lactosogenen Substanz, die zu Lactose im selben Verhältnis stehen würde wie Glykogen zu Glucose, war sehr naheliegend und zog die Aufmerksamkeit zahlreicher Autoren, die in dieser Richtung arbeiteten, auf sich. Die Resultate, die von Thierfelder[1]), P. Bert[2]) unter Hilfe von Schützenberger, Landwehr[3]), Herz[4]), Lajoux[5]) gewonnen wurden, sind wenig beweisend oder negativ gewesen.

Durch Benutzung der Reibschale von Latapie, die ein außerordentlich feines Zerreiben selbst äußerst elastischer Gewebe zuläßt — wie es bei der Brust der Fall ist—, und mittels der Trichloressigsäuremethode zur Untersuchung und quantitativen Bestimmung des Glykogens in der Leber bin ich ebenso zu einem negativen Resultat hinsichtlich des hypothetischen Lactosogens gelangt.

Die zu dem Versuch benutzte Drüse war in voller Tätigkeit; sie wurde wiederholt mit einer warmen physiologischen Kochsalzlösung vor der Exstirpation gewaschen, und dann wurden die Zitzen damit mehrfach bis zur gänzlichen Füllung behandelt, um ihnen die Milch und infolgedessen den Milchzucker zu entziehen. Das Auswaschen war genügend gut ausgeführt, da eine Probe der mit Quecksilbernitrat geklärten breiigen Masse nur eine nicht mehr reduzierende Flüssigkeit ergab.

Die Extirpation nahm 3 Minuten in Anspruch und in 35 Minuten zerrieb man 450 g Gewebe, die in einer Lösung von Trichloressigsäure aufgefangen wurden; die eiweißhaltige Masse wurde bis zur Ausfällung geschüttelt; man erhielt so ein klares, durchaus nicht opalescierendes Filtrat, das durch starken Alkohol selbst nicht nach Konzentration im Vakuum gefällt wurde. Nachdem das Filtrat im Wasserbade mit verdünnten Säuren behandelt war, gab es nicht Anlaß zur Bildung irgendwelcher reduzierender Zucker.

Es scheint also, daß man die Idee einer lactosogenen Substanz, die in der Brustdrüse angesammelt und dazu bestimmt ist, den notwendigen Milchzucker durch eine spätere Hydrolyse zu bilden, aufgeben muß.

---

[1]) Thierfelder, Pflügers Archiv 32, 619, 1883.

[2]) P. Bert, Société de Biologie 1878.

[3]) Landwehr, Pflügers Archiv 21, 40, 1887.

[4]) Herz, Chem.-Zeitg. 15, 1126.

[5]) Lajoux, Journ. de Pharm. et de Chim. (6) 14, 197, 1905.

Zwei Hypothesen bleiben dann noch, um den Ursprung des Milchzuckers zu erklären:

1. Entweder rührt er von der Einwirkung her, welche die Brustdrüsenzelle auf ein Glucoproteid ausübt,

2. oder von der Verwandlung, welche dieselbe Zelle mit dem ihr vom Blute zugeführten Traubenzucker ausführt.

Übrigens lassen sich diese beiden Hypothesen in eine einzige zusammenfassen, denn sie geben alle beide zu, daß die Lactose aus der Glucose herrührt; sie weichen nur darin voneinander ab, daß im ersten Fall die in Lactose zu verwandelnde Glucose nicht frei, sondern im Proteid als prostetische Gruppe des Eiweißes zugegen ist.

Es ist sicher, daß die mit Mineralsäuren gekochten Eiweißstoffe des Serums einen reduzierenden Körper abspalten. Zanetti, Mörner und Pavy haben es gezeigt. C. Foà erinnert an die Resultate dieser Autoren, und in einer Reihe eingehender Untersuchungen beweist er:

1. daß der dabei in Freiheit gesetzte reduzierende Körper Glucose ist,

2. daß der Prozentgehalt an Glucose, Glykogen und Glucoproteid des Blutes nicht höher ist bei Weibchen während der Lactation als bei solchen, deren Brustdrüse in Ruhe ist,

3. daß die Glucose des Glucoproteids ebenso wie die freie Glucose des Blutes zur Bildung des Milchzuckers in der Brustdrüse beiträgt. Er findet in der Tat durch einen Vergleich zwischen dem Blut der allgemeinen Zirkulation (Blut aus der Carotis) und demjenigen, das die Brust durchströmt hat (Blut der Brustvene), bei der Ziege, daß die freie Glucose und diejenige der Glucoproteide stark verringert ist. Das Glykogen des Blutes hat keine Verminderung erlitten.

Nach unserer Meinung drängte sich ein anderer Vergleich, der dieses Mal zwischen dem Venenblut der allgemeinen Zirkulation, z. B. dem Blut der Halsader und dem der Brustader vorgenommen wurde, auf, um den Unterschied zu erklären, der zwischen der Nutzbarmachung des blutreichen Zuckers durch ein Organ besteht (Brustdrüse), das viel Zucker hervorbringen muß; dabei kommt es weniger darauf an, daß dieser Zucker von der Glucose verschieden ist, als daß es sich um Blutzucker aus einem Gewebe (aus solchem des Kopfes) handelt, der eine ganz andere physiologische Rolle spielt.

Dieser Vergleich ist durch Kaufmann und Magne[1]) an der Kuh ausgeführt worden und folgendes sind die Schlüsse ihrer Untersuchungen:

I. Bei der untätigen, in vollständiger Ruhe befindlichen Milchdrüse ist der Verbrauch an Traubenzucker merklich derselbe wie bei den Geweben des Kopfes.

II. Bei der sezernierenden Brust weist das sie durchströmende Blut immer einen größeren Gehalt an Zucker auf als dasjenige der Gewebe des Kopfes.

III. Die Verbrauchsstärke ist veränderlich; sie scheint im engen Zusammenhang mit der sekretorischen Tätigkeit der Brustdrüse zu stehen.

IV. Unter dem Einfluß des Saugens entwickelt sich im Blut mehr Zucker, was auf eine Beteiligung der Leber hinweist.

Die Experimente von Kaufmann und Magne bestätigen meine früheren Untersuchungen und zeigen, daß der Milchzucker sich auf Kosten der Glucose bildet.

Ehe ich fortfahre, bemerke ich, daß es sich nicht als notwendig erweist, daß ein so großer Unterschied, wie ihn die oben erwähnten Autoren angeben, zwischen der Menge der Glucose im Blute der Hals- und dem der Milchdrüsenvene besteht. Die Geschwindigkeit des Blutkreislaufes ist so groß, oder, anders ausgedrückt, die Quantität des Blutes in der Mamma ist derart, daß bei jedem Umlauf nur ein aliquoter Teil des Blutzuckers umgewandelt zu werden braucht, um die Bedürfnisse der Sekretion zu decken.

Meine eigenen Untersuchungen, die in verschiedenen Abhandlungen erschienen sind, und die ich hier zu vervollständigen beabsichtige, haben sich bezogen auf:

1. Die Glucosurie nach der Geburt bei Weibchen (Ziege, Kuh), bei welchen die Amputation der Mammae vor der Befruchtung oder im Verlaufe der Trächtigkeit vorgenommen war.

2. Die Glucosurie nach der Entfernung der Milchdrüsen bei milchgebenden Weibchen (Ziege und Kuh).

Glucosurie nach der Geburt bei Weibchen ohne Brustdrüsen.

Die Resultate sind, ob nun die Amputation der Milchdrüsen vor der Befruchtung oder während der Trächtigkeit vorgenommen war, im Hinblick auf unsere Experimente identisch. Die Befruchtung wird nicht im ersten Fall gehemmt, und die Gravidität nimmt ihren regelmäßigen Verlauf im zweiten; dies

[1]) Kaufmann und Magne, Compt. rend. 143, 779, 1906.

zeigt, daß keine physiologischen Beziehungen zwischen der Entwicklung des Eies und der Milchsekretion obwalten.

Ob sich aber im Augenblicke der Entbindung ein Einfluß etwa der Placentasekrete auf die Milchdrüsen geltend macht, ist eine andere Frage, die noch der experimentellen Beantwortung harrt.

Es sei noch betont, daß nach Entfernung der Milchdrüsen, die nicht in Funktion befindlich waren, keine Spur von Zucker im Harn bemerkbar war.

Die Extirpation der Mamma wurde zuerst 1874 von De Sinéty[1]) beim Meerschweinchen ausgeführt, aber dieser Forscher konstatierte nichts besonderes im Augenblick der Geburt.

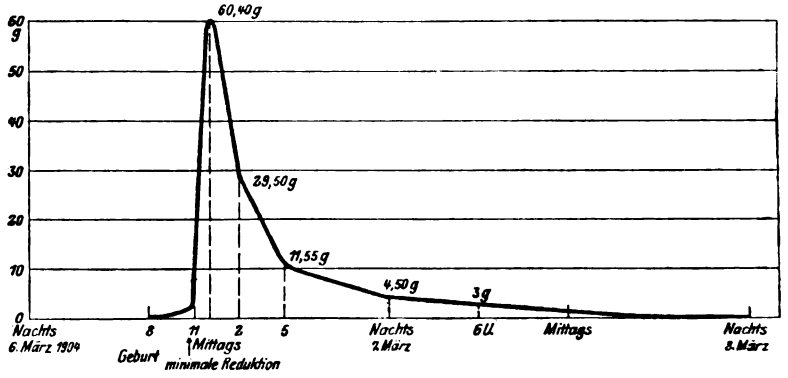


Fig. 1.

P. Bert,[2]) dem es in seinen Untersuchungen mit Schützenberger[3]) nicht gelungen war, eine zum Übergang in Milchzucker befähigte lactosogene Substanz in der Brustdrüse nachzuweisen, entfernte nur die Mammä bei Ziegen, die man dann sofort belegen ließ. Bei der Geburt trat später ein Zucker im Harn auf, über dessen Natur jedoch Bert nichts angibt.

Das war indessen der wichtige Punkt. Um ihn aufzuklären, mußte der Versuch wiederholt werden. Das haben wir getan, indem wir Ziegen nahmen, die nach einiger Zeit wieder belegt wurden, um zu sehen, ob die Glucosurie, die wir bei dem ersten Geburtsakt beobachtet hatten, auch bei dem folgenden auftreten würde. Eine Kuh, der wir das Euter bei voller Lactation abgenommen hatten und von der wir weiter unten sprechen werden, wurde auch für den Versuch herangezogen; wir ließen sie belegen.

[1]) De Sinéty, Société de Biologie (6) 1, 120, 1874.
[2]) P. Bert, Compt. rend. 99, 775, 1884.
[3]) Siehe bei Ch. Porcher, Compt. rend. 28 Mars 1904.

Die Tafeln I bis VIII zeigen die nach der Geburt beobachteten Kurven der Glucosurien; die Tafeln I und II beziehen sich auf die beiden ersten Ziegen, deren wir uns be-

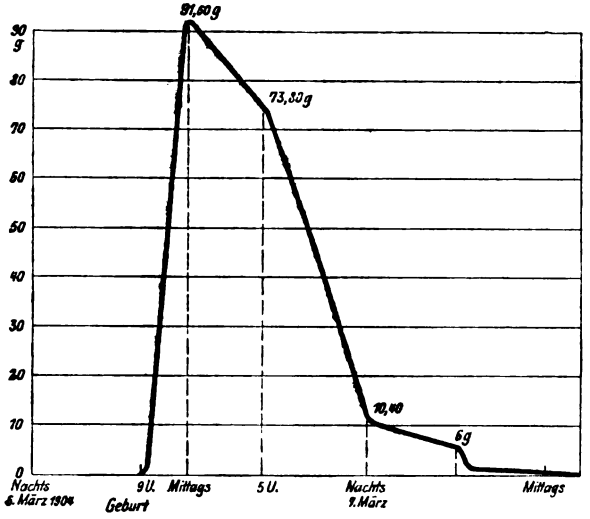


Fig. 2.

dienten (3); die Ziege III warf jedes Jahr junge Ziegen, aber sie diente erst 1907 (Taf. IV) und 1908 (Taf. V) zu Harnuntersuchungen.

Daß nicht alle Kurven gleichen Verlauf zeigen, kann kaum überraschen, denn kein physiologisches Phänomen ist so regel-

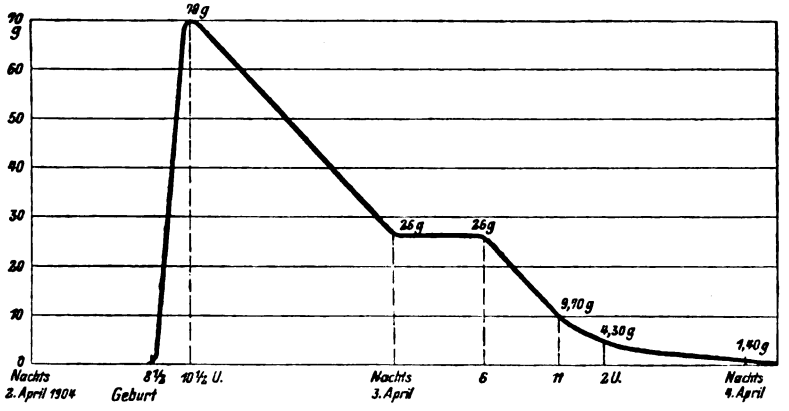


Fig. 3.

mäßig, daß es bei allen Tieren gleichartig in Erscheinung tritt; drei interessante Tatsachen sind jedoch zu bemerken:

1. Konstante Glucosurie.
2. Veränderliche Intensität derselben.
3. Die Schnelligkeit ihres Auftretens.

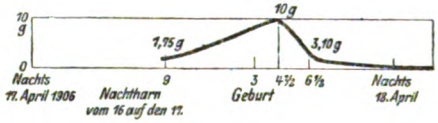


Fig. 4.

1. Konstante Glucosurie. Der Zucker ist immer nach der Entbindung im Harne vorhanden. Dieser Zucker ist mittels Phenylhydrazin charakterisiert worden. Wir haben ein im kochenden Wasser unlösliches Osazon erhalten, das in wässerigem Aceton schwer löslich war und unter dem Mikroskop gelbe, schwach graustichige Nadeln bildete und bei schnellem Erhitzen bei 230 bis 232° schmolz.

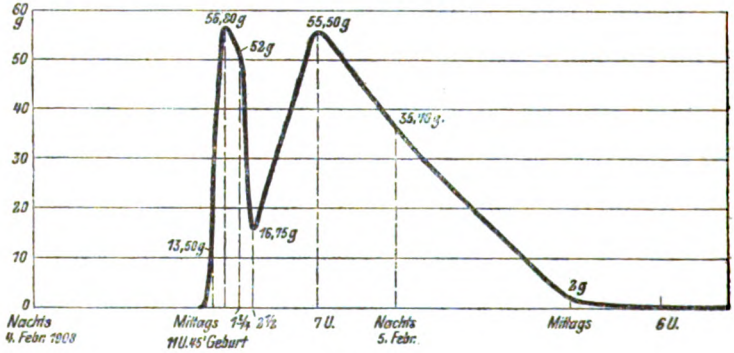


Fig. 5.

Wir haben noch einen Irrtum in unserer ersten Abhandlung (Compt. rend. 28 Mars 1904) zu berichtigen. Wir sagten dort:

„Wir haben jedoch, und dieses ist sehr interessant, am 7. und 8. Tag im Harn der beiden Ziegen ein wenig Lactose gefunden. Ihr Entstehen ist uns durch die Untersuchung des Operationsgebietes erklärt. Trotz aller angewandten Sorgfalt bei der Operation sind bei unseren beiden Tieren in der Tat einige kleine Keime der Drüse zurückgelassen worden. Diese Keime konnten durch ihre eigene physiologische Tätigkeit genügen, sehr schwache Mengen Glucose in Lactose zu verwandeln, aber sie wären nicht imstande gewesen, diese Umwandlung auch bei den großen Mengen

Glucose zu bewirken, von denen ein Teil nun auf dem Harnweg ausgeschieden wurde."

Die Diagnose Milchzucker stützten wir seinerzeit auf die Darstellung einer sehr kleinen Menge eines im kochenden Wasser löslichen Osazons. Die große Übung, die wir jetzt beim Untersuchen kleiner Mengen Zucker im Harn haben, hat uns jedoch überzeugt, daß eine Charakterisierung, die allein auf der etwas größeren oder geringeren Löslichkeit im kochenden Wasser beruht, nicht ausreicht, wenn man nur mit kleinen Quantitäten dieses Produktes zu tun hat.

Übrigens wurde eine der beiden oben erwähnten Ziegen im folgenden Jahre geopfert und die Autopsie des Operationsgebietes wurde sorgfältig vorgenommen; es fand sich keine Spur von Drüsenkeimen, nur Veränderungen durch Narbenknoten.

Die Glucosurie post partum bei den Weibchen ohne Brustdrüsen, die man so klar bei der Ziege und der Kuh beobachten kann, ist von Marshall und Kirkness bei dem Meerschweinchenweibchen nicht festgestellt worden. Wir haben schon die Gründe angeführt, warum es nicht überraschend ist, daß eine solche Beobachtung gemacht worden ist; wir werden auch nicht darauf zurückkommen. Indessen sind wir glücklicher als die englischen Autoren gewesen, da wir ihre Versuche wieder aufgenommen haben, ohne wie sie störende Zwischenfälle zu finden.

So trat in ihren 4 Versuchen beim ersten eine Frühgeburt und beim zweiten ein Abort infolge Tuberkulose der Mutter ein.

Ich habe in einigen meiner Untersuchungen nach sorgfältiger Klärung des Harns das Vorhandensein von Glucose nach der Geburt festgestellt; die Menge des Zuckers im Harne überschritt nicht 1 g pro Liter.

Aber wir wollen uns keineswegs auf die Bedeutung dieser Versuche berufen, sondern wollen lieber auf die uns bei den Ziegen und der Kuh so klar erwiesenen Resultate näher eingehen.

In dem Augenblicke, wo man dem Milchdrüsengewebe die Fähigkeit zuerkennt, den ihm durch die Zirkulation zugeführten Traubenzucker in Laktose zu verwandeln, muß man zu dem Schlusse gelangen, daß bei Fehlen des umwandelnden Gewebes Glucose im Harn erscheint.

Die Glucosurie, die der Geburt folgt, muß hier als ein sehr markantes Zeichen der Glykogenbildung in der Leber gelten. Diese letztere hatte den Zweck, die Glucose, die zur Bildung

des ersten Milchzuckers notwendig ist, freizugeben, wenn die verwandelnde Drüse nicht gefehlt hätte. Wie um einem Eingreifen der Brustdrüse zuvorzukommen, gibt es eine Funktion der Leber unter Einflüssen, die wir nicht kennen. Dieses glykogenbildende Organ erzeugt im Augenblick der Geburt ein Übermaß von Glucose, die mangels einer Nutzbarmachung ausgeschieden wird.

2. Veränderliche Intensität. So regelmäßig auch das Erscheinen der Glucose im Harn der Weibchen ohne Brustdrüsen im Augenblick der Geburt ist, so ist sie weit davon entfernt, stets dieselbe Intensität aufzuweisen. Sie scheint im Verhältnis zur Milchqualität zu stehen, sie hängt also nicht allein von der Art, sondern auch vom Indivuduum ab.

Es war besonders interessant, die nach mehreren Geburten desselben Tieres gewonnenen Resultate zu vergleichen. Ich danke Herrn de Sinéty, daß er mich auf Grund von Beobachtungen, die er mir mitgeteilt hat, dazu veranlaßte. De Sinéty hat bemerkt, daß die guten Ammen in gewissen Gegenden immer seltener werden. Dieses Resultat schreibt er dem Umstande zu, daß die Frau die Gewohnheit verliert, zu stillen. „Die Funktion macht das Organ", sagt das Prinzip der Entwicklung, aber umgekehrt, wenn man das Organ nicht arbeiten läßt, so stirbt dieses ab. Die lokale Unterdrückung der Brusttätigkeit zerstört alle die physiologischen Verbindungen, welche diese Drüse mit den anderen Organen, der Leber in erster Linie, haben muß, und diese werden auch nicht mehr angeregt, jene Verbindungen wiederherzustellen, die im gegebenen Augenblicke wünschenswert sind.

Für die Brustdrüse ist die Geburt dieser Zeitpunkt und die Leberreaktion wird durch die Glucosurie gekennzeichnet.

Mit den Jahren müßte die Intensität derselben abgeschwächt werden, wenn die Ansicht de Sinétys zuträfe. Die Ziege III scheint zuerst eine solche Auffassung zu rechtfertigen, denn nach dem Wurfe von 1907 ist ihre Glucosurie viel geringer als die von 1905 war, aber im Jahre 1908 erreicht sie wieder einen hohen Stand; trotzdem ist sie niedriger als beim ersten Male. Die ursprüngliche Hypothese von de Sinéty ist also durch diese Resultate nicht bestätigt. Aber ich gestehe gern, daß es viel längerer Untersuchungen bedarf, um ihre Berechtigung anzuerkennen, oder aber ihren Unwert zu beweisen.

Geschwindigkeit des Erscheinens. Es ist eine feste Regel, daß die Glucosurie sich erst nach der Geburt kund gibt. Indessen bei den Beobachtungen VI und VII konnte man in den zwei bis drei Stunden, die ihr vorangingen, das Vorhandensein einer kleinen Menge Glucose im Harne feststellen; dazu will ich jedoch bemerken, daß die Ziegen in diesen beiden Fällen lebhafte Kolik vor dem Gebären hatten.

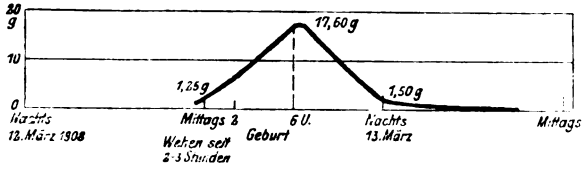


Fig. 6.

Im allgemeinen kann man sagen, daß die Glucosurie post partum bei den Ziegen ohne Brustdrüsen sehr schnell auftritt; sie verschwindet ebenso schnell, aber doch nicht so schnell, wie sie erscheint. Der Verlauf der Kurven ist ziemlich der gewöhnliche. Zwischen dem Augenblick der Geburt der Jungen und dem des höchsten Standpunktes der Glucosurie liegen nur vier Stunden (Beob. I), drei Stunden (Beob. II) zwei Stunden (Beob. III), eine Stunde (Beob. V).

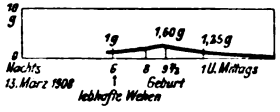


Fig. 7.

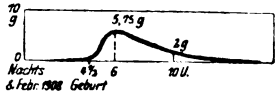


Fig. 8.

Die Form der Kurve der Beobachtung VI erklärt sich leicht. Da nach der Geburt häufig Harn gelassen wird, so diente jede quantitative Bestimmung des erhaltenen Urins dazu, die Kurve durch zahlreiche Punkte zu konstruieren.

Da bei der Beobachtung VI das Tier noch keinen Harn ließ, haben wir es sondiert; die erhaltene Flüssigkeit war eine Mischung von zuckerreichem Harn, der seit der Geburt in die Blase ergossen war und anderem weniger zuckerhaltigen, der anderweitig sezerniert war.

Eine ebenso auffallende Tatsache ist es, daß die Glucosurie schnell erlischt. Ohne daß der rechte Zweig der Kurve so

schnell fällt, wie der linke steigt, kann man doch sagen, daß die Glucosurie ziemlich schnell verschwindet; es scheint, daß infolge Fehlens des zugehörigen Organs die Milchsekretion aussetzt und die Leber mit einer nutzlosen Überproduktion von Glucose sehr schnell aufhört.

Der Zucker ist in 24 Stunden nach der Geburt der Jungen verschwunden, oder er findet sich nur noch in sehr kleinen Mengen vor. Bereits in der 7. oder 8. Stunde nach dem höchsten Stande der Zuckerausscheidung findet man nur noch eine der vorhergehenden sehr nachstehende niedrige Ziffer von Glucose. Der Abfall erfolgt zuweilen sehr steil (Beob. I, II und III).

Das erklärt, warum Moore und Parker bei Wiederholung des Versuches von P. Bert, den ich ebenfalls wieder aufgenommen habe, zu negativen Resultaten gelangt sind. Die Harne ihrer Ziegen sind erst einige Tage nach der Geburt untersucht worden, das heißt zu spät, zu einem Zeitpunkt, wo die Glucosurie verschwunden war; man kann also die Beobachtungen dieser Autoren hier nicht berücksichtigen. Übrigens werde ich auf diesen Punkt sogleich zurückkommen, wenn ich die Glucosurie nach Amputation der Milchdrüsen bei Weibchen während der Laktation besprechen werde[1]).

Exstirpation der Milchdrüsen bei säugenden Weibchen.

Diese Operation ist der vorigen sehr ähnlich.

A priori gibt es in der Tat einen weitgehenden Parallelismus zwischen der Beobachtung der Glucosurie nach der Geburt bei den Weibchen ohne Milchdrüsen und der der Glucosurie nach der Exstirpation der in Funktion befindlichen Mammae. In diesem wie in dem andern Fall war die Harnglucose bestimmt, in Laktose verwandelt zu werden, im ersteren Fall entspricht sie der Glucose, die den ersten Milchzucker geliefert hätte, im zweiten Fall stellt sie die Menge dar, die sofort disponibel wäre, wenn nicht die Brustdrüse entfernt gewesen wäre.

[1]) Der mir von den Herren Marshall und Kirkness gemachte Vorwurf, die Experimente von Moore und Parker nicht zu kennen, ist keineswegs gerechtfertigt. Ich zitiere die amerikanischen Schriftsteller, indem ich an ihre Untersuchungen die hierauf bezügliche Kritik im Journal de l'École Vétérinaire de Lyon (30. IX. 1905) und Le Lyon médical (28. V. 1805) knüpfe.

Ich habe die Exstirpation der Mammae bei einer Ziege und einer Kuh bei voller Laktation ausgeführt.

Die Kurven der sich einstellenden Glucosurie sind gegenübergestellt. Die Kurven IX und XII gleichen sehr denen, welche uns die Glucosurie post partum bei den Weibchen ohne Milchdrüsen gibt; zu Kurve XI ist das Gleiche wie bei Kurve VI zu bemerken. Die Kurve X ist von einem abweichenden Typus.

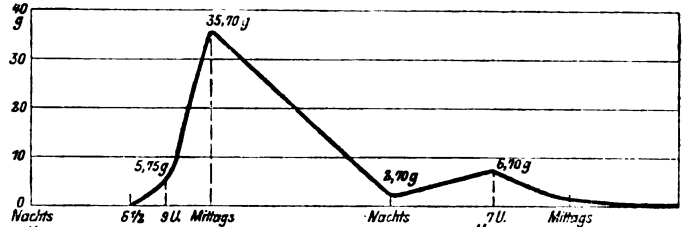


Fig. 9.

Kurz, wir können feststellen, daß dic Glucosurie ungefähr um die vierte oder fünfte Stunde nach der Operation am meisten ausgesprochen ist: $5^1/_2$ Stunden im Fall IX, $4^1/_2$ Stunden im Fall XII.

Die Glucosurie sinkt schnell, in weniger als 48 Stunden nach der Operation ab; außer im Falle X. Zuweilen hat der Harn nach Verlauf von 15 Stunden (Fall XII) seine reduzierende Kraft verloren.

Der Harnzucker ist wie sonst Glucose.

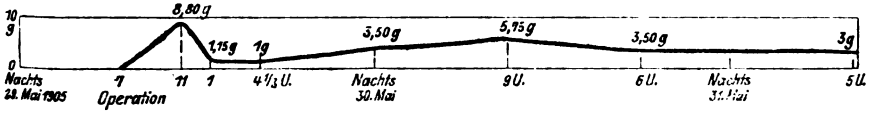


Fig. 10.

Man hat gegen diese Untersuchungen zwei Einwände erhoben, auf die ich jetzt antworten möchte:

1. Marshall und Kirkness schreiben die von mir beobachtete Glucosurie auf Grund ihrer negativen Resultate beim Meerschweinchen dem Operationschok zu. Der Verlauf der Kurven der beobachteten Glucosurie, der denjenigen der Kurven der Glucosurie post partum bei den Weibchen ohne Brust-

drüsen so ähnlich ist, die Höhe dieser Glucosurie, das Fehlen jeglicher beunruhigender Symptome bei meinen Tieren im Augenblicke der Operation und den darauf folgenden Stunden

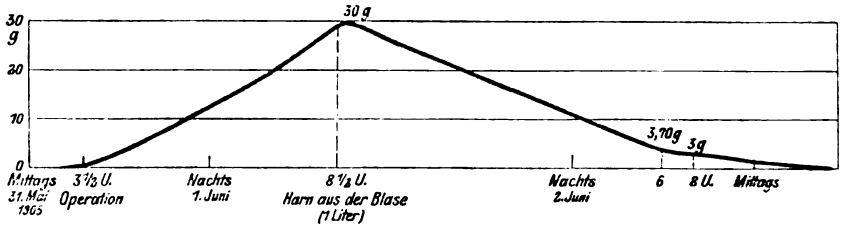


Fig. 11.

lassen den Einwurf der englischen Autoren nicht gerechtfertigt erscheinen. Er fällt übrigens von selbst zusammen, da diese Glucosurie der zuvor besprochenen, die aber von keinem Operationschok herrühren kann, sehr ähnlich ist. Dasselbe macht übrigens C. Foà gleichfalls gegen Marshall und Kirkness geltend.

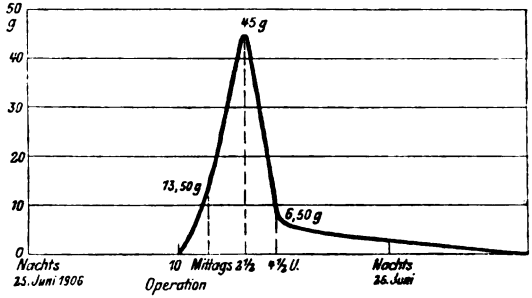


Fig. 12.

2. Der Einwand von Foà ist viel ernster. Foà sagt, daß er meine Experimente wiederholt vorgenommen und nur negative Resultate erzielt habe. Ich bedaure, daß der italienische Autor nicht alle die Vorsichtsmaßregeln getroffen hat, die ich ergriffen habe, und besonders, daß er den Harn erst 7 Stunden nach der Amputation der Brustdrüse analysiert hat. Das ist ein wenig spät, sogar zu spät, und wenn auch die Glucosurie nach dem Operieren mehr als 7 Stunden andauert, so sinkt ihr Höhepunkt sehr schnell ab, und es ergibt sich daraus, daß Herr Foà für seine Beobachtungen den hohen Glucosegehalt nicht aus-

genutzt hat, indem er seine Untersuchungen nicht gleich nach der Operation auf den Harn ausdehnte. Es ist zweifellos, daß dieser Autor glücklicher sein wird, wenn er die Kritiken beachtet, die an seinem Experimente zu üben ich mir erlaubte.

Die Glucosurie rührt in den beiden Serien von Untersuchungen, deren Resultate wir soeben gegeben haben, von einer beträchtlichen Hyperglykämie her. Wir haben sie immer konstatiert und natürlich war ihr Stand am höchsten, wenn die Entnahme von Blut im Augenblicke der stärksten Glucosurie ausgeführt wurde. Im folgenden sind die Daten angeführt, die eine mammalose Ziege im Moment der Geburt gab:

Ziege, belegt am 28. Oktober 1904 (III), wirft am 2. April 1905 um 8,30 Uhr ein männliches, um 9 Uhr ein weibliches Junges.

A. Vor der Geburt kein Zucker im Harn.

B. Nach der Geburt:

1. Harn: 8,45 Uhr: 300 ccm (2,50 g Glucose pro Liter),
2. Harn: 10,30 „ 100 „ (70 „ „ „ „
3. Harn: bis Mitternacht am 2.: 90 ccm (26 g Glucose pro Liter),
4. Harn: nachts vom 2. zum 3.: 200 „ (26 „ „ „ „),
5. Harn: 3. April bis 11 Uhr morgens: 50 ccm (99,70 g Glucose pro Liter),
6. Harn: 3. April 11 bis 2 Uhr: 35 ccm (4,30 g Glucose pro Liter);
7. Harn: Abend des 30. und Nacht vom 3. zum 4.: 160 ccm (1,40 g Glucose pro Liter),
8. Harn: 4 Uhr und 5 Uhr morgens: 180 ccm. Der Urin reduziert nicht mehr.

Quantitative Bestimmung des Zuckers im Blute:

Blut entnommen: aus der Jugularis am 31. März.
Glucose: 0,44 g pro Liter.

Blut entnommen aus der Jugularis am 2. April (nach der Geburt um 10,45 Uhr morgens. Glucose: 2,85 g pro Liter.

Blut entnommen aus der Jugularis am 6. April.
Glucose 0,30 g pro Liter.

Es besteht also von der Niederkunft an, sofort nach der Geburt, eine sehr ausgesprochene Hyperglykämie, für welche die Glucosurie ein deutlicher Ausdruck ist.

Ebenso ist es in den Stunden, die der Operation einer in Tätigkeit befindlichen Brustdrüse folgen; ich bin nicht überrascht, daß Foà sie nicht beobachtet hat, da seine Blutentnahme stattfand, ohne daß eine Glucosurie bestand.

Außer dem Phänomen der Hyperglykämie habe ich bei den werfenden Tieren ohne Mamma beobachtet, daß das Blut

der Jugularis während der Geburt viel schneller gerinnt als einige Tage vor oder nach der Geburt entnommenes.

Ich habe bei all diesen Untersuchungen niemals Galaktose neben der Glucose gefunden, weder in dem nach der Geburt gesammelten Harne bei den Weibchen ohne Brustdrüsen, noch auch nach der Amputation der Brustdrüsen bei säugenden Weibchen. Der unreine Zucker aus den daran besonders reichen Harnen lieferte bei Behandlung mit heißer Salpetersäure keine Spur von Schleimsäure.

Es ergibt sich also aus diesen chemischen Untersuchungen, daß die Lactose nicht, wie Müntz[1]) meint, durch Vereinigung von Blutglucose mit Nahrungsgalaktose entsteht.

1. Wir haben also Galaktose neben Glucose in dem von den Ziegen nach der Geburt gelassenen Harn nicht gefunden.

2. Wenn man trotzdem die Annahme machen will, daß der Milchzucker sich bei den Pflanzenfressern durch eine Vereinigung von Glucose mit Galaktose bilden kann, so muß man diese Erklärung verlassen, wenn man die Bildung des Milchzuckers bei der Frau, und besonders bei den ausschließlichen Fleischfressern sieht; die Nahrung dieser enthält nur sehr wenig oder keine Galaktane, die reichlich in den Pflanzen vorhanden und fähig sind, durch Hydrolyse Galaktose zu ergeben. Indem so die Hypothese von Müntz ihre Allgemeingültigkeit verliert, büßt sie ihren Wert ein, um so mehr, da man heute weiß, daß der Milchzucker in verschiedenen Milchsorten, z. B. bei Frau, Eselin, Stute, Kuh, Ziege, Hündin und Büffelkuh[2]) identisch[3]) ist.

Wenn aber die Galaktose, die mit der Glucose verbunden im Milchzucker vorhanden ist, nicht aus der Nahrung herrührt, wenn sie nicht vorgebildet in die Brustdrüse gelangt, so ist es doch eine Notwendigkeit, daß sie daraus durch Neubildung entsteht; dabei müßte dieser Teil, bevor sich die eine Hälfte der Glucose mit der zweiten intakt gebliebenen Hälfte vereinigt, eine stereochemische Umlagerung erleiden.

Wir haben vorher daran erinnert, daß eine solche Isomerisierung möglich sein müßte. Die Bildung des Milchzuckers kommt durch eine Art Synthese, wahrscheinlich fermentativer Natur zustande. Wir kennen heute die reversible Wirkung der Enzyme, die zuerst Hill bei der

[1]) Müntz, Ann. de Chim. et de Phys., 6e Série, 10, 566.

[2]) Ch. Porcher, Bull. Soc. chim., 3e Série, 29, 828.

[3]) Denigès, Journ. de Phys. et de Chim., 5e Série, 27, 413.

Maltase beobachtet hat; es wäre an sich möglich, daß in der Milchdrüse ein Ferment zugegen ist, das die Glucose mit der Galaktose nach der Isomerisierung eines Teils der ersteren zu diesem Zucker verknüpft. Wir haben lange nach einem solchen Enzym gesucht, aber unsere Versuche sind ohne Resultate geblieben.

Wir führten die Extirpation der Brustdrüsen mit allen uns möglichen aseptischen Vorsichtsmaßregeln bei einem Schafe während voller Lactation aus, nachdem wir vorher die Drüsen mehrfach mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen hatten; dann zerkleinerten wir sie schnell mit sterilen Instrumenten unter Kühlung durch flüssige Luft. Wir erhielten eine außerordentlich feine Masse, die in einer hydraulischen Presse bei einem Druck von 300 Atmosphären ausgepreßt wurde. Der erhaltene Saft wurde in mehrere Portionen geteilt und mit wechselnder Konzentration von Glucose und Galaktose unter Zugabe von Toluol bei 37° im Brutschranke aufbewahrt.

Es war mir nicht möglich, durch Vergleich der Reduktion wie des Drehungsvermögens vor und nach dem Aufenthalt im Brutschranke die geringste Verwandlung der Zucker in Lactose wahrzunehmen.

Gegen dieses negative Resultat läßt sich der Einwurf erheben, daß ich ohne Zusatz von Blut gearbeitet habe. Die Glucose gelangt in der Tat in die Brustdrüse als Lösung in dem blutreichen Plasma, und man kann sich wohl vorstellen, daß dieses nicht allein die Rolle des Lösungsmittels spielt, sondern der Drüse ein Agens zuführt, das sie in irgendeiner Weise reizt, auf den normalen Zucker des Organismus die verwandelnde Wirkung auszuüben.

Das vorhergehende Experiment wurde mit folgender Änderung noch einmal ausgeführt:

Eine milchende Ziege wird gründlich gemolken, und ihr Euter mehrfach abgespült und wiederholt zur möglichsten Entfernung anhaftender Lactose gemolken. Die Drüse wird nach der Exstirpation im Mörser fein zerrieben.

Die geronnene Masse wird in sterilisierte Gefäße getan; diese enthalten:

1. sehr feine Glaskugeln, die durch ihr Hin- und Herbewegen die Durchmischung der Masse erleichterten, und

2. den Zucker, teils Glucose allein, teils ein Gemisch von Glucose und Galaktose, deren mögliche Veränderung studiert werden sollte.

Vor der Operation hatte man Sorge getragen, von der Versuchsziege völlig aseptisch Blut zu entnehmen. Das defibrinierte Blut wurde

dann in die Flaschen verteilt, welche die zerriebene Drüse usw. enthielten.

Obgleich alle Vorsichtsmaßregeln in aseptischer Hinsicht getroffen waren, so läßt sich absolute Sterilität in einem solchen Gemisch nicht garantieren.

Nach Zusatz von Toluol wurde das Gemisch 3 bis 24 Stunden im Brutschrank belassen; eine Umwandlung konnte jedoch nicht festgestellt werden.

Selbsverständlich sprechen diese negativen Resultate an sich nicht gegen die Möglichkeit einer enzymatischen Laktosebildung; eventuell sind die Versuche in anderer Richtung fortzusetzen.

Die experimentellen Untersuchungen mit positiven Resultaten, über die wir weiter oben berichtet haben, stehen interessanterweise im Einklange mit den klinischen Beobachtungen, den Harnbefunden bei schwangeren Frauen und bei der Entbindung.

Ehe wir uns jedoch der Erforschung dieser letzteren Beobachtungen zuwenden, möchte ich noch auf die Ergebnisse der Versuche über die Wirkungen von Glucoseinjektionen bei säugenden Weibchen hinweisen.[1])

Ich habe Kühen, Ziegen und Hündinnen während der Lactation hypertonische oder isotonische Lösungen von Glucose unter die Haut, in das Bauchfell oder in die Brustdrüsen durch die Zitzen eingespritzt.

Die Injektionen unter der Haut wurden bei der Kuh ausgeführt. Der dann im Harn gefundene Zucker ist Milchzucker gewesen.

Die Injektionen in die Milchdrüsen sind bei der Ziege gemacht. Indem man die Glucoselösungen in die Drüse spritzt, bis sie stark gespannt ist, hält man so die Sekretion in Gang, ohne jedoch die Fähigkeit der Drüsenzelle, Glucose in Lactose zu verwandeln, zu schädigen. Die in die Brustdrüse eingeführte Glucose wird dann durch die Venen oder auf dem Lymphwege resorbiert, wird durch das Arterienblut den Mammazellen zugeführt, die Milchzucker daraus bilden, und schließlich durch die Zirkulation wieder fortgeführt.

Die Fähigkeit des Brustdrüsengewebes, während der Tätigkeit normalerweise Milchzucker aus Glucose zu bilden, welche

[1]) Ch. Porcher, Compt. rend., 4. Sept. 1905.

dasselbe unter den oben berichteten Bedingungen bewahrt, hat dessenungeachtet eine Grenze. Denn wenn die Glucose schnell eingespritzt wird, wenn die Lösungen sehr konzentriert sind, oder wenn die Brustdrüse bei Injektionen zu sehr gespannt wird, wenn überhaupt die dem Brustgewebe zugeführte Glucose zu reichlich ist, wird der größte Teil dieses Zuckers der Einwirkung des Organs entgehen und auf natürlichem Wege durch den Harn wieder ausgeschieden.

Die Erfahrung hat übrigens in mehreren Fällen gelehrt, daß dieselbe Menge Glucose, welche bei dem Weibchen mit in Tätigkeit befindlicher Mamma Lactosurie verursacht, bei anderen Weibchen, deren Brustdrüse schwächer funktioniert, zum größeren Teil wenigstens Glucosurie hervorruft.

Die vergleichende Medizin und die klinischen Erfahrungen liefern noch weitere hierhin gehörige Daten.

Zuelzer[1]) und von Noorden[2]) haben festgestellt, daß die Verabreichung von Glucose per os in genügendem Maße, um sonst alimentäre Glucosurie hervorzurufen, im Wochenbett zu Lactosurie führt. Ich habe das gleiche Experiment mit demselben Erfolge bei einer säugenden Hündin gemacht im Vergleich mit einer Hündin, deren Milchdrüsen im Ruhezustande waren.

Über die Glucosurie vor der Geburt.

Die beiden physiologischen Akte, die zur Bildung des Milchzuckers führen: Überproduktion von Glucose und Umwandlung dieser letzteren in Milchzucker, können, trotzdem sie eine gewisse Abhängigkeit voneinander haben, nicht gleichzeitig eintreten; so kann die Überproduktion der Glucose dem entscheidenden Augenblick, der durch die Entbindung bestimmt wird, vorangehen.

Das Vorhandensein einer kleinen Quantität Glucose ist fast ein normaler Befund bei Frauen im 6. oder 7. Monat der Gravidität (ca. 1,2 bis 3 g). Allmählich macht diese Glucose dem Milchzucker Platz in dem Maße, als die Brustdrüsen zu funktionieren beginnen.[3])

[1]) Zuelzer. Dissert., Berlin 1893.

[2]) von Noorden, Arch. von Du Bois-Reymond. Physiol. Zeitschr. 1893, 385.

[3]) Ch. Porcher und Commandeur, Compt. rend., 5. April 1904.

Kurz, die Tätigkeit der Leber gibt sich bei der Frau vor derjenigen der Brustdrüse kund, und wenn die zuckerbildende Tätigkeit der Leber nicht übermäßig ist, was die anfangs nur schwache Glucosurie anzeigt, so begreift man leicht, daß diese Glucosurie allmählich einer Lactosurie Platz macht. Die Milchdrüse, die ihrerseits nun in Tätigkeit tritt, wie die Sekretion von Colostrum bezeugt, ist trotz anfänglich geringer Tätigkeit imstande, die geringe, ihr zugeführte Glucosemenge in Lactose zu verwandeln.

Aber wenn die Tätigkeit der Leber so zunimmt, daß eine stärkere Glucosurie als die schon besprochene eintritt, so wird der Zucker dann z. T. wieder durch die Nieren eliminiert, wenn die Brustdrüse noch nicht genügend vorbereitet ist, um diese so überreichlich in die Zirkulation geworfene Glucose vor der Entbindung in Milchzucker umzuwandeln.

Wir haben so den Schlüssel zu gewissen, bei schwangeren Frauen gemachten Beobachtungen, sowohl bei der ersten Niederkunft wie auch bei Vielgeburten; Beobachtungen, die man nach unserer Meinung zu unrecht mit Diabetes in Verbindung gesetzt hat.

Rossa[1]) hatte in der Tat schon die klinische Notwendigkeit eingesehen, in den sog. Fällen von Diabetes bei der schwangeren Frau zwei Gruppen zu unterscheiden:

1. Schwangerschaft tritt auch bei schon diabetischen Frauen ein. Das ist eine ernste Komplikation, aber ein seltener Fall, da die Konzeption bei Diabetes schwer erfolgt. Hier hat man es mit wahrem Diabetes zu tun, der Tod, Fehlgeburt oder vorzeitige Niederkunft zur Folge hat.

2. Leichte, gutartige Fälle, die keinen Einfluß auf den regelmäßigen Verlauf der Schwangerschaft haben. Hier konstatiert man nur eine hohe Glucosurie, keine Polydypsie, keine Polyurie wie in den vorhergehenden Fällen; der Harn hat seine normale Dichte.

Dieser letzteren Gruppe rechnen Commandeur und wir selbst unsere Beobachtungen von Glucosurie ante partum zu, indem wir ihr die Erklärung, die ihr nach unserer Meinung zukommt, geben.

Wenn man auch Mengen von 6, 8, 10, 12, 15 g und noch mehr Glucose pro Liter antrifft, so handelt es sich doch um eine physiologische Glucosurie. Die Folge einer unvollständigen Ausnutzung eines Überflusses von Glucose, die durch die Leber vor der Entbindung in die Zirkulation getrieben wird, das heißt in einem Augenblicke, wo die Mama noch nicht völlig bereit ist, Glucose in Lactose zu verwandeln.

---

[1]) Rossa, Centralbl. Gynäkol. Nr. 25, 657, 20. Juni 1896.

Diese Glucosurie, welche erst in den letzten Monaten der Schwangerschaft auftritt und oft einen täglich wechselnden Grad zeigt, verschwindet vom Moment der Geburt an, um der Lactosurie Platz zu machen.

Am Ende der Schwangerschaft, wenige Tage vor der Entbindung findet man immer neben Glucose Spuren von Lactose, deren Vorhandensein sehr regelmäßig ist im Harn von jenen Frauen, welche Glucosurie ante partum aufweisen. Die Brustdrüse ist zu dieser Zeit nicht vollständig untätig und die Sekretion von Colostrum ist vorhanden und zeigt an, daß sich eine Funktion vorbereitet. Die Brusttätigkeit kann also genügen, ein wenig Glucose in Milchzucker umzuwandeln, aber ihre Tätigkeit ist nicht für ein größeres Quantum ausreichend; das ist sie erst nach der Entbindung, wenn sie in voller Verrichtung ist.

Die vergleichende Physiologie bietet uns übrigens für das soeben Gesagte einen Beweis. Denn bei den milchenden Weibchen, wo man eine verhältnismäßig große Brustdrüsentätigkeit sogar ante partum beobachten kann, hat man es nicht mit der erwähnten physiologischen Glucosurie zu tun, aber wohl mit einer Lactosurie. Bei diesen Tieren haben in der Tat die Erblichkeit, die Anpassung und die Sekretion die milchproduzierenden Eigenschaften gesteigert; ihre Brustdrüsen sind infolgedessen sehr entwickelt und das Colostrum ist schon vor der Geburt reichlich vorhanden; man beobachtet bei ihnen auch nur Glucosurie, die 12 g pro Liter erreichen kann.[1])

Man kann eine interessante Konsequenz aus der Feststellung der Glucosurie ante partum bei der schwangeren Frau ziehen und zwar die, daß man die Eigenschaft einer Frau, welche eine gute Amme nach der Entbindung sein wird, vorhersehen kann, einerlei, ob es die erste Niederkunft ist, oder schon mehrere vorangegangen sind. Meine Vermutungen haben sich mehrere Male auf das einzige Zeugnis einer Harnanalyse hin verwirklicht.

Wir haben gesehen, daß es zur Bildung von Lactose mindestens der Mitwirkung zweier Organe bedarf: der Leber und der Brustdrüse. Es ist wahrscheinlich, daß die Leber Reserven von Glykogen schaffen muß, um die Anforderungen an

[1]) Ch. Porcher und P. Leblanc, Bull. de la Soc. cent. de Med. vet., 24. Juli 1902.

Glucose zu erfüllen, welche die Mamma bei der Galaktosebildung nach der Geburt an sie stellt.

Aber unsere Kenntnis von der Geschwindigkeit der Zuckerumwandlungen im Organismus, von der Schnelligkeit der Umwandlung der Glucose in Glykogen läßt uns die Frage aufstellen, ob diese Anhäufung sehr notwendig sei. Charrin und Guillemonat[1]) haben sie während der Trächtigkeit beim Meerschweinchenweibchen konstatiert, das aus früher angegebenen Gründen hierzu jedoch nicht als Versuchstier hätte genommen werden dürfen. Die Resultate, die wir durch Benutzung des Kaninchens erzielten, ergaben auch keine Klarheit, trotzdem letzteres ein viel besseres Milchtier als das Meerschweinchen ist; denn es bringt zahlreiche Junge zur Welt, die nackt geboren werden und ziemlich lange saugen. Die Menge des Glykogens in der Leber der trächtigen weiblichen Kaninchen, die unmittelbar vor der Geburt stehen, ist nicht immer größer als die der männlichen oder der nicht belegten Kaninchen, wie folgende Zahlen lehren:

1.	Kaninchen, ungefähr 20 Tage trächtig,	Glykogen:	7,35%
2.	Nicht belegtes Kaninchen	„	6,05 „
3.	Kaninchen, ungefähr 10 Tage trächtig .	„	4,05 „
4.	Nicht belegtes Kanichen	„	6,20 „
5.	Trächtiges Kaninchen, unmittelbar vor der Geburt	„	8,00 „
6.	Kaninchen, das 2 Tage vorher Junge geworfen und sie gefressen hat . . .	„	7,75 „
7.	Nicht belegtes Kaninchen	„	8,15 „

Die angewandte Technik ist dieselbe gewesen, deren wir uns zur Untersuchung eines etwaigen milchzuckerbildenden Enzyms bedient haben.

Charrin und Guillemonat erklären die Glykogenvermehrung in der Leber im Augenblick der Geburt als das Resultat der Verlangsamung der Ernährung.

Es scheint mir übertrieben, dieses unbiologische Moment bei einem so physiologischen Akt wie die Schwangerschaft in Betracht zu ziehen. Hierüber ist zwischen den genannten Autoren und de Sinéty[2]) eine Diskussion entstanden. Gegen die von

[1]) Charrin und Guillemonat, Soc. de Biol. 3. Mars 1900, 211.

[2]) Hinsichtlich der vorhergehenden Anmerkung siehe M. de Sinéty, Soc. de Biol., 10. Mars 1900.

Charrin und Guillemonat gegebene Erklärung äußerte de Sinéty, daß eine Glykogenansammlung im Verlaufe der Gravidität zum Zwecke der zukünftigen Bildung von Glucose erfolge.

Injektion von Phlorizin bei milchenden Weibchen.[1])

Welchen Einfluß übt nun Phlorizin auf die Lactosurie bzw. Hyperglucämie?

Allein Cornevin und Cremer haben bisher über subcutane Phlorizineinspritzungen bei Kühen berichtet[1]).

Cornevin[2]) stellte nach den Phlorizininjektionen eine große Zunahme der Zuckermenge in der Milch fest, die „das Doppelte der ursprünglichen Menge überschreiten kann", aber er beschäftigt sich weder mit der Frage nach der Natur dieses Zuckers noch mit der des Harnzuckers. Ebenso hätte es Interesse gehabt, die Veränderungen des Zuckers im Blut zu erforschen.

Über seine Versuchsanordnung läßt sich übrigens streiten. Man müßte, wie Cremer und wir selbst es getan haben, die ganze sezernierte Milch sammeln, und deren Milchzucker vor, während und nach dem Versuche quantitativ bestimmen. Cornevin hat diese unerläßliche Vorsicht nicht gebraucht.

Außerdem muß man sich mit Cremer über die „Ziffer von 33 g Lactose pro Liter wundern, die Cornevin unmittelbar vor der Injektion gefunden haben will", eine so niedrige Ziffer ist sehr selten von den zahlreichen Autoren gefunden worden, die sich mit der quantitativen Bestimmung des Milchzuckers in der Milch beschäftigt haben.

Cremer gelangt in seiner Abhandlung[3]) zu Schlußfolgerungen die denen Cornevins absolut entgegengesetzt sind, aber er hat, ebensowenig wie dieser letztere, gleichzeitig Untersuchungen über den Zucker des Harns wie über den des Blutes gemacht.

Meine Experimente sind an der Kuh und an der Ziege ausgeführt worden. Neben der genauen Prüfung der Schwankungen in der Milchzuckerausscheidung bei den mit Phlorizin behandelten Weibchen haben wir noch außerdem aufzuklären versucht:

1. die Natur des bei diesen Tieren ausgeschiedenen Zuckers.
2. den Zuckergehalt des Blutes im selben Augenblick.

---

[1]) Ch. Porcher, Compt. rend., 6. Juni 1904.

[2]) Cornevin, Compt. rend. 116, 263, 1898.

[3]) Cremer, Zeitschr. f. Biol. 37, 59, 1899.

Die bei der Kuh gewonnenen Resultate sind in der nebenstehenden Tabelle zusammengestellt.

Wenn die Milch nach der Injektion mehr Lactose pro Liter als vorher enthält, so ist das gewiß nicht in den von Cornevin angedeuteten Verhältnissen. Die konstatierte Zunahme ist niemals bedeutend, und sie markiert sich nur sehr, wenn die Phlorizin-Injektionen stark sind und wiederholt gemacht werden (Versuch 2); außerdem ist zu bemerken, daß ihr die starke Verminderung der Milchsekretion entgegenwirkt, die eine Folge der Diurese ist und immer bei den mit Phlorizin behandelten Tieren zu beobachten ist. Wenn also die Milch ein wenig konzentrierter ist, so ist sie doch weniger reichlich, und alles in allen kommt es zu einer sehr bedeutenden Verminderung in der Gesamt-Ausscheidung der Lactose.

Aber die Ergebnisse der Phlorizinversuche an milchenden Weibchen lassen noch einen Schluß zu, welcher mit der Theorie der Phlorizinglucosurie in nächster Beziehung steht.

Der Harnzucker bei den mit Phlorizin behandelten Milchweibchen ist Glucose, das heißt derselbe Zucker wie bei anderen mit Phlorizin behandelten Tieren. Wenn die Phlorizinglucosurie die Wirkung einer Hyperglykämie ist, so bedingt sie eine Anhäufung von Zucker im Blute und müßte infolgedessen bei den Milchweibchen je nach ihrer Intensität eine mehr oder minder starke Lactosurie erzeugen. Aber dem ist nicht so, wie uns die Tatsachen zeigen; es entsteht Hyperglucämie, der Zucker nimmt im Blut ab, weil nach der Hypothese von v. Mering die Niere ihn leichter passieren läßt. Die Hauptrolle bei der Phlorizinglucosurie fällt also der Niere zu.

Es gibt endlich Umstände, wo der Milchzucker im Harn erscheint, ohne daß man notwendigerweise an eine Bildung durch Glucoseumlagerung denken muß. Sie seien kurz erwähnt, obgleich sie im Grunde diese Arbeit nicht berühren.

Wenn man bei den Weibchen mit voller Lactation[1]) das Melken unterbricht, freiwillig oder gezwungen, so führt die fortgesetzte Milchsekretion bald zu einer solchen Überladung der Drüse, daß die abnorme Spannung zu einer partiellen Resorption der in der Mamma gebildeten Lactose und deren Übertritt in die Zirkulation führt.

Da es sich hierbei nach Dastre[2]) um einen Zucker handelt, der bei intravenöser oder subcutaner Zufuhr nicht durch den Organismus ausgenutzt wird, so wird er auf natürliche Art durch den Harn ausgeschieden.

Bei der Frau wird eine Unterbrechung des Nährens, das freiwillige Absetzen, Entzündungen der Mamma, die zur Milchstauung führen,

[1]) Ch. Porcher, Bull. de la Soc. cent. de méd. vet., 13. Nov. 1902.

[2]) Dastre, Arch. de Physiol. norm. et Pathol. (V) 1, 7, 8, 1889.

1. Versuch

Injektion von 5 g Phlorizin, gelöst in 25 ccm Alkohol von 90%, (31. März um 6 Uhr 30 Min. morgens).

Tag	28. März		29. März		30. März		31. März		1. April		2. April		3. April	
Zeit des Melkens	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)
Die Milch von jedem Melken	3400	4920	3450	4800	3625	4675	4360	3675	3730	4275	4000	4350		
Gesamte Milch	8320		8250		8300		7975		8005		8350			
Lactose pro Liter	46,57	48,97	46,90	48,97	46,57	48,61	48,22	48,97	49,33	47,57	48,26	48,97		
Gesamt-Lactose	400,26		396,85		395,86		390,20		387,36		401,16			

Quantitative Bestimmung des Blutzuckers (aus der Jugalaris):

Vor der Injektion . . . 0,40 g (Glucose) pro Liter
5 Stunden nachher . . 0,32 g „

2. Versuch.

Erste Injektion von 20 g Phlorizin in alkoholischer Lösung am 18. April, 9 Uhr morgens; zweite Injektion von 20 g, am 19. April 9 Uhr morgens.

Tag	16. April		17. April		18. April		19. April		20. April		21. April		22. April		23. April	
Zeit des Melkens	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)
Milch von jedem Melken	3810	4350	3525	4475	3420	4120	2940	4000	3075	3450	3200	4075	3660	3975		
Gesamte Milch	8160		8000		7540		6940		6525		7275		7635			
Lactose pro Liter	47,92	48,26	47,92	47,92	48,61	49,33	50,83	50,83	50,07	50,07	48,97	48,26	48,61	46,90		
Gesamt-Lactose	392,58		383,84		370,46		352,76		326,70		353,35		364,27			

Tag	23. April		24. April		25. April		26. April		27. April		28. April		29. April		30. April	
Zeit des Melkens	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)	A. (6h)	M. (6h)
Milch von jedem Melken	3540	3525	3050	4250	3300	3600	3450	3375	3000	3850	3550	3575	3400	3675		
Gesamte Milch	7065		7300		6900		6825		6850		7125		7075			
Lactose pro Liter	50,45	50,83	47,23	46,90	47,57	43,81	49,33	49,70	50,07	47,57	50,45	48,61	48,97	48,97		
Gesamt-Lactose	357,76		343,37		315,79		337,91		334,36		352,97		346,45			

Quantitative Bestimmung des Blutzuckers (aus der Jugularis):

18. morgens (vor der Injektion) . . . 0,38 g (Glucose) pro Liter
19. nachmittags um 3 Uhr 30 Min. . 0,19 g „ (bedeutende Hypoglucämie).

Die bei der Ziege erhaltenen Resultate, die in der untenstehenden Tabelle zusammengestellt sind, führen zu ähnlichen Schlüssen.

Injektionen: Am 8. um 9 Uhr morgens 1 g Phlorizin und des Abends um 5 Uhr noch 1 g; am 11. um 7 Uhr morgens 0,25 g; am 12. um 8 Uhr morgens 0,50 g; am 13. um 8 Uhr morgens 0,75 g.

Tage:									
6. Juni	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
Zeit des Melkens:									
Abend Morg.	Abend Morg.	Abend Morg.	Abend Morg.	Abend Morg.	Abend Morg.	Abend Morg.	Abend Morg.	Abend	Morg.
1000 1200	920 1140	790 525	730 835	915 1150	980 1220	990 1000	780 945	875	1000
Gesamte Milch:									
2200	2060	1315	1565	2065	2200	1990	1725	1875	
Lactose pro Liter:									
52,40 52,80	53,20 52	52,80 48,35	50 52	49,40 50,40	51,25 52,40	54 53,20	51,60 51,25	52,25	51,75
Gesamt-Lactose:									
115,75	108,20	62	80	103,10	114,15	106,65	88,72	97,45	

gleichfalls von Lactosurie begleitet sein[1]). Hier handelt es sich um einen physiologischen und belanglosen Übertritt von Milchzucker in den Harn.

Wenn man also Zucker im Harn einer stillenden Frau findet, sollte man sich fragen, ehe man an einen pathologischen Zustand denkt, um welchen Zucker es sich handelt. Wenn es Milchzucker ist, so ist das eben eine natürliche Erscheinung; wenn es aber Glucose ist, verdient der Fall volle Beachtung.

Meine früheren Untersuchungen über die Lactosurie der Kühe sind übrigens in der tierärztlichen Hochschule zu Berlin von Sieg[2]) aufgenommen und bestätigt worden.

Zusammenfassung.

A. Experimentelle Befunde.

1. Bei weiblichen Tieren (Ziegen, Kühen) tritt nach Entfernung der Milchdrüsen bei der Geburt eine konstante, aber in der Höhe der Zuckerausscheidung schwankende Glucosurie auf; sie stellt sich rasch ein und verschwindet in etwa 24 Stunden.

2. Bei milchenden Tieren (Ziegen, Kühen) folgt der Amputation der Brustdrüsen alsbald eine Glucosurie, deren Höhe wechselt und die in 24 bis 48 Stunden wieder erlischt.

3. Diese Glucosurien sind durch den Eintritt einer Hyperglucämie bedingt.

4. Jede nicht allzu übermäßige Hyperglucämie führt auf der Höhe der Lactation zu einer Lactosurie.

5. Phlorizininjektionen rufen bei säugenden Tieren genau wie bei nicht milchenden oder bei männlichen Tieren lediglich Glucosurie hervor.

B. Hypothetisches.

Die Glucosurie, die sich bei den weiblichen Tieren nach Entfernung der Milchdrüsen während der Geburt einstellt und die auch nach der Amputation in voller Tätigkeit begriffener Mammä auftritt, ist ein Ausdruck dafür, daß Traubenzucker in den Harn übergeht, der von normal erhaltenen Brustdrüsen in Milchzucker umgewandelt werden würde.

---

[1]) Siehe Ch. Porcher, Oeuvre médico-chirurgiale. De la Lactosurie. Paris. Masson 1906.

[2]) E. Sieg, Dissertation. Gießen 1909.

Über eine neue empfindliche Skatolreaktion.

Von

Takaoki Sasaki, Tokio.

(Aus dem Laboratorium der I. medizinischen Universitätsklinik, Berlin.)

(Eingegangen am 25. Dezember 1909.)

Auf Veranlassung von Prof. E. Friedmann habe ich den Verbleib der Glyoxylsäure im Blute nach verschiedenen Durchblutungsversuchen verfolgt und gelegentlich gefunden, daß das Aceton im Blute mit Skatol und konzentrierter Schwefelsäure eine Farbenreaktion gibt. Interessanterweise kommt die Reaktion nicht mit Indol zustande. Ich habe diese Reaktion als eine Skatolreaktion ausgearbeitet. An Stelle des Acetons konnte ich mit Methylalkohol die Reaktion noch empfindlicher machen.

Die Reaktion wird in folgender Weise ausgeführt:

In einem Reagensglas werden 3 ccm Skatollösung mit 3 Tropfen Methylalkohol versetzt. Nach dem Durchmischen schichtet man ganz vorsichtig (besonders bei der konzentrierten Skatollösung) unter die Lösung ungefähr das gleiche Volumen konzentrierter Schwefelsäure. Bald sieht man einen violettroten Ring an der Grenze beider Flüssigkeiten. Man lasse das Reagensglas einige Minuten ruhig stehen und durchmische dann vorsichtig die Schwefelsäure mit der Skatollösung. Die ganze Flüssigkeit wird jetzt violettrot. Je verdünnter die Skatollösung ist, desto mehr überwiegt der violette Ton über den roten. Diese Reaktion ist sehr empfindlich. Sie ist noch in der Verdünnung 1:5000000 deutlich zu erkennen. Der farbige Ring ist schon bei der Verdünnung 1:1000000 nicht mehr wahrnehmbar, wohl aber ist dann die violette Färbung der ganzen Flüssigkeit nach dem Durchmischen noch sehr deutlich. Die Intensität der Färbung bei der Reaktion geht nicht parallel

mit der Konzentration der Skatollösung. Besonders bei der konzentrierten Skatollösung ist das gut begrenzte Unterschichten der konzentrierten Schwefelsäure unter Vermeidung des frühzeitigen Vermischens mit der Skatollösung (am besten mittels einer Pipette) und einige Minuten langes Stehenlassen des Reagensglases vor dem Durchmischen wichtig. Bei der wässerigen Suspension des Skatols versagt die Reaktion, indem die Skatolkrystalle sich direkt mit der konzentrierten Schwefelsäure berühren und die ganze Flüssigkeit bräunlichgelb färben.

Vor anderen empfindlichen Skatolreaktionen[1]) hat diese den Vorzug, daß sie nicht bei Indol erscheint, sondern nur bei Skatol. Sie gestattet daher eine leichte Unterscheidung von Indol und Skatol mit Hilfe einer Farbenreaktion. Der Glyoxylsäurereaktion steht sie an Empfindlichkeit nicht nach.

Hervorgehoben sei, daß Tryptophan und α-Methylindol die Reaktion nicht geben.

Es scheinen mir bei der Reaktion die beiderseitigen Methylgruppen (und zwar bei Skatol in β-Stellung) irgend eine wichtige Rolle zu spielen, denn weder Indol noch Äthylalkohol können dabei Skatol bzw. Methylalkohol ersetzen.

[1]) Diesbezügliche alte und neueste Literaturen sind erschöpfend dargestellt in Hoppe-Seyler und Thierfelders Handb. d. chem. Analyse, 8. Aufl. 1909, S. 296.

Zur Kenntnis der Fettspaltung durch Pankreassaft. I.

Von

Emile F. Terroine.

(Aus dem Laboratorium für physiko-chemische Physiologie der École pratique des Hautes Études, Collège de France, Paris.)

(Eingegangen am 7. Dezember 1909.)

(Mit 2 Figuren im Text.)

Einleitung und Versuchstechnik.

Seit Cl. Bernards Entdeckung der hydrolysierenden Wirkung des Pankreassaftes auf die Fette und Ester war die Pankreaslipase nicht mehr der Gegenstand eingehender Untersuchungen. Zwei Umstände, der eine praktischer, der andere theoretischer Art, waren schuld daran, daß wir bisher über den Mechanismus dieser Fermentwirkung nur wenig wissen. Der praktische lag vor der wichtigen Entdeckung von Bayliss und Starling in der Schwierigkeit, größere Quantitäten von Pankreassaft zu erhalten; das zerkleinerte Drüsengewebe selbst ist sehr wenig wirksam.

Der theoretische Umstand war der, daß man schon zur Zeit Cl. Bernards und sehr lange nach ihm besonders die emulsionierende Wirkung des Pankreassaftes und nicht seine hydrolysierende Wirkung ins Auge faßte. Es ist jetzt nicht mehr zweifelhaft, daß Kohlenhydrate und Proteinsubstanzen zuerst durch Fermente gespalten werden, bevor sie resorbiert werden; für die Fette nehmen viele Physiologen noch an, daß sie ohne vorhergehende Spaltung resorbiert werden. Der Mechanismus der Spaltung von Zuckern oder Eiweißstoffen ist der Gegenstand zahlreicher Arbeiten gewesen, während das Studium des lipolytischen Enzyms ziemlich geruht hat.

Da die Möglichkeit, größere Quantitäten Pankreassaft zu erhalten, diese Arbeit erleichtert hat, erschien es uns notwendig, den Wirkungsmechanismus der Pankreaslipase, die Wirkungen der Temperatur, der Reaktion des Milieus, des Zusatzes von Elektrolyten, Activatoren und anderen Verdauungssäften zu studieren.[1])

Viele der früheren Untersuchungen über die Fermente des Pankreas sind mit Gewebsauszügen angestellt, während es so leicht ist, große Quantitäten von Pankreassaft zu erhalten, entweder durch das Verfahren der permanenten Fistel, oder durch die einfache Methode von Bayliss und Starling. Wir wollen sogleich betonen, daß wir im Laufe aller dieser Untersuchungen nur aseptischen Pankreassaft gebraucht haben; zahlreiche Arbeiten haben gezeigt, daß es erhebliche Unterschiede gibt zwischen den Sekretionsprodukten einer Drüse, speziell des Pankreas, und den entsprechenden Gewebsauszügen.

Hunden, die durch die Mischung A. C. E. anästhesiert sind, wird nach subcutaner Einspritzung von Morphinchlorhydrat aseptisch eine Röhre in den Fistelkanal eingeführt. Man spritzt in irgend eine zutage liegende Ader Sekretin ein. Da die erste Quantität des herauslaufenden Saftes durch Darminhalt verunreinigt sein oder Zellen oder Zellstückchen enthalten kann, wird sie immer verworfen. Nachher wird der Saft in sterilen Flaschen aufgefangen und aufbewahrt.

Diesen Saft ließen wir dann auf sehr verschiedene Körper wirken, aus denen stets im Laufe dieser Einwirkung Säure frei wurde. Die lipolytische Wirkung des Saftes ist also klar und kann durch Säuretitrierungen gemessen werden. Es ist dies sehr einfach, wenn es sich um Fettsäuren handelt, die in Wasser löslich sind, z. B. um Essigsäure, Buttersäure usw.; in diesem Falle wird Ermittelung des Säuregrades mittels einer titrierten NaOH-Lösung in Gegenwart von Phenolphthalein vorgenommen. In den Fällen, wo hochmolekulare Säuren abgespalten werden, haben wir die Kanitzsche Methode[2]) gebraucht, welche darin besteht, daß man den zu titrierenden Mischungen eine solche Quantität Alkohol hinzufügt, daß die Konzentration der gesamten Flüssigkeit wenigstens 40% abs. Alkohol ist. Dieser Zusatz hat verschiedene Vorteile, erstens wird die Farbänderung des Phenolphthaleins viel deutlicher, und dann werden die zu titrierenden Mischungen viel homogener; außerdem wird die Hydrolyse der Natriumseifen, welche im Laufe der Titration entstehen, zurückgedrängt (Kanitz).

Die Titer der gebrauchten NaOH-Lösungen wechseln je nach den Versuchen; man wird immer ihre Stärke in der Zusammenfassung der Versuche angegeben finden.

---

[1]) Frau Terroine und Herrn Dr. L. Morel danke ich bestens für ihre freundliche Mitarbeit an verschiedenen Teilen dieser Arbeit.

[2]) Kanitz, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 1903, 400.

I. Einfluß der Reaktionsprodukte.

Bei der Spaltung der neutralen Fette durch den Pankreassaft entstehen mehrere Körper. Seit langem ist bekannt, daß sich Glycerin und Fettsäuren bilden; da ein Teil der gebildeten Säuren durch die Alkalien des Pankressaftes neutralisiert werden, gibt es Seifen. Die Verseifung eines Fettes erfolgt aller Wahrscheinlichkeit nach stufenweise; infolge der Abtrennung von zuerst einem, dann zweier Moleküle Säure von dem betreffenden Triglycerid bildet sich eine gewisse Quantität von Di- oder Monoglycerid. Es war darum angezeigt, in der Folge zu untersuchen:

1. Die Wirkung der Reaktionszwischenprodukte (Mono- und Diglycerid).

2. Die Wirkung der Reaktionsendprodukte (Fettsäuren, Seifen, Glycerin).

1. Wirkung der Reaktionszwischenprodukte (Mono- und Diglycerid).

Wir haben festzustellen versucht, wie die Verseifung eines Triglycerids verläuft, wenn man das Mono- oder Diglycerid der entsprechenden Säure zugibt. Bei diesen Versuchen müssen zwei verschiedene Dinge in Betracht gezogen werden: erstens die Schnelligkeit der Reaktion sodann der Endzustand. Das Studium des einen oder des anderen dieser Punkte kann die Technik in bezug auf die Mengen der bei den Versuchen in Betracht kommenden Substanzen verändern. Bei den Studium über die Schnelligkeit der Reaktion sind die Mengen von untergeordneter Bedeutung; man weiß schon lange, daß die Schnelligkeit der Enzymwirkung nicht von der Konzentration abhängt. Wir haben daher äquimolekulare Mengen verwendet. Bei den Studien über den Endzustand, wo die Menge der reagierenden Körper wesentlich in Betracht kommt, haben wir die Substanzen in solchen Quantitäten benutzt, daß sie die gleichen Mengen Säuren zu liefern imstande waren, d. h. 3 Mol. des Mono-, $^3/_2$ Mol. des Di-, 1 Mol. des Triglycerids.

Wir haben bei unseren Untersuchungen besonders die Acetine ins Auge gefaßt, da die Löslichkeit der drei Formen jeden Irrtum

beseitigt, welcher aus dem Unterschied der Homogenität der Mischung entsteht. Analoge Resultate haben wir auch mit anderen Säuren erzielt, speziell mit den Butyrinen, wie es unsere Zahlen zeigen. Bei diesen Versuchen sind dem Pankreassafte in Anbetracht seiner schwachen Wirkung, wenn er rein ist, meistens Gallensalze zugesetzt worden.

Alle Mischungen enthalten 5 ccm Pankreassaft, und ihr Gesamtvolum wurde mit destilliertem Wasser auf 50 ccm gebracht. Wenn sie Gallensalze enthalten, so ist ihre Konzentration 0,1%. Die in Reaktion tretenden Mengen sind äquimolekulare bei den Versuchen über die Reaktionsschnelligkeit (0,840 g Mono-, 1,060 g Di-, 1,450 g Triacetin), von gleichem Säuregehalt bei den Versuchen über den Endzustand (2,595 g Mono-, 1,596 g Di-, 1,452 g Triacetin). Die Mischungen wurden im Thermostaten bei 40° digeriert. Sobald die Versuchsdauer mehr als 4 Stunden beträgt, werden die Versuche aseptisch ausgeführt. In allen Fällen schlossen sich Säuremessungen mit $^{n}/_{20}$-NaOH an, welche sich auf je 10 ccm erstrecken. Es folgen nun einige Versuchsresultate.

Versuch 1. Temp. 40°.

Saft allein.

Wirkungszeit in Minuten	Monoacetin	Diacetin	Triacetin	Mono- + Di- + Triacetin
20	0,1	0,2	0,5	1,1
50	0,1	—	2,0	3,5
90	0,2	0,4	2,1	3,9
185	0,1	0,4	2,4	4,4

Versuch 2. Temp. 40°.

Saft + Gallensalze.

Wirkungszeit in Minuten	Monoacetin	Triacetin	Mono- + Triacetin
15	0,3	4,9	7,4
40	0,5	7,9	7,2
100	0,7	12,1	10,7
230	1,2	15,1	12,5

Versuch 3. Temp. 40°.
Saft + Gallensalze.

Wirkungszeit in Minuten	Monoacetin	Triacetin	Mono- + Triacetin
15	0,3	3,7	4,3
40	0,3	6,9	8,3
100	0,2	11,7	13,3
230	0,3	14,5	15,4

Versuch 4. Temp. 40°.
Saft + Gallensalze.

Wirkungszeit in Minuten	Monobutyrin	Tributyrin	Mono- + Tributyrin
15	0,1	1,0	1,7
55	0,1	2,0	3,4
100	0,1	3,4	5,5

Versuch 5. Temp. 40°.
Saft + Gallensalze (Vers. auf den Endzustand; Gesamtvolum 100 ccm).

Wirkungszeit in Stunden	Monoacetin	Diacetin	Triacetin	Mono- + Di- + Triacetin
24	0,5	4,5	9,1	15,5
$50^1/_2$	0,5	5,7	10,4	16,0
$72^1/_2$	0,5	6,0	10,4	16,5
146	0,8	6,3	10,7	17,4
1166	1,0	7,5	14,4	28,3

Es folgt also aus diesen Versuchen, daß ein Zusatz von Mono- und Diglycerid zu einem Triglycerid dessen Zerlegung nicht beeinflußt. Nun wissen wir aber wohl, daß die Reaktion begrenzt ist, und daß ein Triglycerid nicht vollständig in seine Komponenten — Fettsäuren und Glycerin — zerlegt wird. Anderseits können wir uns von der progressiven Abnahme der Spaltungsschnelligkeit eines Triglycerids infolge der Bildung der Zwischenprodukte überzeugen. Wenn man obige Zahlen näher betrachtet, erkennt man, daß das Monoglycerid langsamer gespalten wird als das entsprechende Triglycerid. Die Reaktion wäre also sowohl in ihrer Schnelligkeit als auch in ihrem Endzustand durch die Bildung von Produkten, welche durch den Pankreassaft immer schwerer spaltbar sind, begrenzt. Wir haben nun noch einmal zugleich mit

dem genauen Studium der Spaltungsschnelligkeit dessen Wert im Moment des Gleichgewichtes der Mono-, Di- und Triglyceride bestimmt. Die in gleicher Weise wie die vorhergehenden gemachten Versuche geben äußerst klare Resultate.

Versuch 1. Temp. 38°.

Saft allein.

Wirkungszeit in Stunden	Monoacetin	Diacetin	Triacetin
1 40′	0,1	0,4	0,1
4	0,2	0,4	0,5
9	0,2	0,7	1,3
24	0,2	0,9	2,9

Versuch 2, 3 und 4 (identisch). Temp. 37°.

Saft + Gallensalze.

Wirkungszeit in Minuten	Monoacetin	Diacetin	Triacetin
15	alk.	0,1	0,1
40	1 Tropf.	0,3	1,5
100	0,1	1,1	3,7
240	0,2	3,7	5,6
15	0,3	1,2	2,7
40	0,6	2,4	4,3
100	0,9	3,2	5,0
240	1,1	5,0	10,0
15	0,1	1,4	3,2
40	0,3	2,0	4,7
100	0,5	3,3	5,3
240	0,5	3,1	6,2

Versuch 5 und 6 (identisch). Temp. 38°.

Saft + Gallensalze.

Wirkungszeit in Minuten	Monobutyrin	Tributyrin
15	0,4	1,6
40	0,9	4,8
100	1,2	6,4
240	1,4	8,2
15	0,5	4,0
40	1,0	6,2
100	1,1	9,7
240	1,5	13,3

Versuch 7. Temp. 38°.
Saft + Gallensafte.

Wirkungszeit	Monoacetin	Diacetin	Triacetin
20′	0,1	0,5	0,7
45′	0,2	0,9	1,5
1 St. 45′	0,3	1,5	3,4
4 St.	0,3	2,3	5,0
20 St.	0,3	3,8	9,8
44 St.	0,4	4,0	10,3
92 St.	0,4	4,7	10,7
188 St.	0,8	4,6	11,0

Es geht demnach aus diesen Versuchen hervor, daß die im Laufe der Spaltung eines Triglycerides durch den Pankreassaft gebildeten Produkte immer resistenter werden; sie begrenzen durch ihre Zusammensetzung die Endwirkung sowohl in ihrer Schnelligkeit als in ihrem Endzustande. Es ist dies eine Tatsache, mit welcher jeder Versuch, das Wirkungsgesetz der Pankreaslipase zu begründen, rechnen muß.[1])

2. Wirkung der Reaktionsprodukte (Fettsäuren, Seifen und Glycerin.)

A. Wirkung der Fettsäuren. Die Versuche sind mittels Olivenöls, welches zuerst durch Zusatz von Natriumcarbonat emulsioniert wurde, gemacht worden; das Ergebnis zeigt, daß, wenn man einer solchen Emulsion ein wenig Ölsäure hinzufügt, die Spaltung bedeutend verlangsamt wird.

	Steigung der Acidität nach 1 St. 50′	6 St. 10′
20 ccm Ölemulsion + 5 ccm Saft + 3 ccm Wasser	6,1	9,4
20 „ „ + 5 „ „ + 3 „ Ölsäure	3,2	4,1

Der Zusatz von Ölsäure zu dem Öl hindert die Verseifung durch den Pankreassaft bedeutend. Man kann die Wirkung der Säuren auf zwei verschiedene Weisen deuten: entweder wirkt die Säure wie ein Umsatzprodukt, oder sie verändert die Milieureaktion. Man müßte also mit der Wirkung der Säure diejenige ihres Natriumsalzes vergleichen, welches sich auch im Laufe der Spaltung bildet.

[1]) Morel und Terroine, Soc. de Biol. 67, 272.

B. Wirkung der Seifen. Zum Studium des Natriumoleates war es von sehr großer Bedeutung, einen reinen Körper und eine recht neutrale Lösung zu haben. Man weiß, daß aufgelöste Seifen dissoziieren und daß diese Dissoziation um so größer ist, je verdünnter die Lösung ist. Wir haben deshalb eine dialysierte Auflösung von Natriumoleat benutzt (Merck), um das überschüssige Alkali auszuschalten. Diese Lösung haben wir dann der Mischung von Öl und Pankreassaft allein oder mit Gallensalzen hinzugefügt. Die Resultate zeigen uns in allen Fällen eine bedeutende Verlangsamung der Spaltungsschnelligkeit für sehr schwache Quantitäten Natriumoleat (höchstens 0,25% in den folgenden Versuchen.)

Versuch 1, 2, und 3. Temp. 38°.
Pankreassaft allein.

Ölemulsion ccm	Pankreassaft ccm	Natriumoleat 1% ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren	
				nach	
				1 St. 30′	4 St.
20	5	—	10	3,8	4,6
20	5	1	9	3,6	3,8
20	5	2	8	2,8	3,6
20	5	5	5	2,7	2,5
20	5	10	—	2,4	2,3
				nach 6 St. 40′	
20	5	—	10	8,0	
20	5	1	9	9,7	
20	5	2	8	7,8	
20	5	5	5	5,3	
20	5	10	—	3,5	

				nach		
				2 St.	4 St.	7 St. 15′
20	5	—	40	5,3	8,0	11,1
20	5	1	39	2,1	3,3	3,4
20	5	10	30	1,8	2,6	2,7

Ein Zusatz von Natriumoleat hemmt die Spaltung des Oleins durch den Pankreassaft bedeutend.

C. Wirkung des Glycerins. Wir haben die Wirkung des reinen, neutralen Glycerins auf die Spaltung des natürlichen Trioleins oder des mit CO_3Na_2 emulsionierten, durch den Pankreassaft allein oder des mit Gallensalzen sensibilisierten, studiert.

Versuch 4. Temp. 38°.
Pankreassaft + Gallensalze.

Öl-emulsion ccm	Pankreas-saft ccm	Gallen-salze 8% ccm	Natrium-oleat 1% ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach 6 St. 40′
20	5	—	—	15	8,0
20	5	5	—	10	10,9
20	5	5	1	9	10,6
20	5	5	2	8	10,4
20	5	5	5	5	5,9
20	5	5	10	—	3,2

In allen Fällen erhielten wir das unerwartete Resultat, daß das Glycerin die Spaltungsschnelligkeit des Öles bedeutend vergrößert.

Versuch 1, 2, 3 und 4. Temp. 40°.
Pankreassaft allein. — Emulsioniertes Olivenöl.

Öl-emulsion ccm	Pankreas-saft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren		
				nach		
				1 St. 30′	4 St. 30′	22 St. 30′
20	5	—	10	4,0	4,5	7,1
20	5	1	9	3,4	5,7	8,4
20	5	2	8	3,5	5,5	8,5
20	5	5	5	5,9	8,8	12,5
20	5	10	—	8,8	10,4	13,5
				nach		
				1 St. 30′	4 St. 55′	23 St.
20	5	—	10	5,5	8,4	10,3
20	5	1	9	5,7	8,3	12,9
20	5	2	8	7,1	10,8	15,3
20	5	5	5	7,5	10,1	14,1
20	5	10	—	8,4	11,2	14,9
				nach		
				1 St. 30′	4 St.	29 St.
20	5	—	20	4,2	—	5,7
20	5	5	15	5,0	5,2	6,7
20	5	10	10	5,3	6,3	8,5
20	5	15	5	6,1	7,0	9,0
20	5	20	—	6,2	6,6	11,2
				nach		
				1 St. 30′	3 St. 50′	20 St.
20	5	—	20	7,0	7,2	13,7
20	5	20	—	10,8	12,5	19,5

Versuch 5, 6, 7 und 8. Temp. 40°.
Pankreassaft allein. Nicht emulsionierte Fette.

Öl ccm	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren		
				nach		
Olivenöl				3 St. 20′	5 St. 30′	22 St.
10	5	—	30	1,2	—	2,6
10	5	10	20	6,0	6,3	11,0
10	5	20	10	—	6,0	12,3
				nach		
Ricinusöl				2 St. 10′	5 St. 45′	
10	—	—	25	—	0,3	
10	5 (gekocht)	—	20	—	0,0	
10	5	—	20	3,0	9,7	
10	5	5	15	8,3	20,1	
10	5	10	10	9,7	19,6	
10	5	15	5	10,9	23,1	
10	5	20	—	10,8	20,6	
				nach		
Kottonöl				2 St. 20′	6 St. 45′	
10	—	—	25	—	4,6	
10	5 (gekocht)	—	20	—	4,8	
10	5	—	20	6,2	9,0	
10	5	5	15	8,5	9,2	
10	5	10	10	9,4	10,6	
10	5	15	5	11,1	12,3	
10	5	20	—	11,6	14,5	
				nach		
Schweinefett				2 St. 30′	6 St. 20′	22 St.
5 g	—	—	35	—	0,7	0,7
5 g	5 (gekocht)	—	30	—	1,6	1,7
5 g	5	—	30	1,5	2,1	2,1
5 g	5	5	25	1,1	6,8	11,8
5 g	5	10	20	1,5	5,2	12,5
5 g	5	20	10	3,1	7,1	10,2
5 g	5	30	—	3,6	6,3	7,7

Die genaue Betrachtung der Zahlen der letzten Serie, wo der Pankreassaft mit Gallensalzen vermengt war, zeigt, daß die Verseifungsbeschleunigung des Öles durch das Glycerin schnell abnimmt, wenn das Glycerin in wachsenden Mengen vorhanden ist. Wir haben versucht festzustellen, ob dies auch eintritt, wenn der Saft allein wirkt; der Versuch zeigt, daß man in diesem Fall eine bedeutende Konzentration des Glycerins anwenden muß, um eine Verminderung der Beschleunigung zu beobachten.

Versuch 9, 10 und 11. Temp. 40°.

Pankreassaft + Gallensalze. Nicht emulsioniertes Öl.

Olivenöl ccm	Pankreassaft ccm	Gallensalze 8% ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren		
					nach		
					1 St. 30′	2 St. 40′	19 St. 15′
10	5	—	—	30	2,6	2,3	2,3
10	5	5	—	25	10,2	—	13,8
10	5	5	5	20	11,9	13,0	25,0
10	5	5	10	15	8,9	7,5	16,0
10	5	5	15	10	8,0	11,0	20,0
10	5	5	20	5	7,0	9,2	16,9
10	5	5	25	—	7,0	8,5	14,2
					nach 6 St.		
10	5	—	—	25	2,9		
10	5	5	—	20	25,0		
10	5	5	5	15	31,3		
10	5	5	10	10	34,1		
10	5	5	15	5	37,3		
10	5	5	20	—	30,8		
					nach		
					1 St. 45′	5 St. 15′	24 St.
10	5	—	—	25	5,6	7,0	11,6
10	5	5	—	20	7,5	10,6	19,7
10	5	5	5	15	10,8	17,0	28,4
10	5	5	10	10	10,0	16,1	28,3
10	5	5	15	5	8,9	13,3	22,5
10	5	5	20	—	7,2	10,2	19,9

Versuch 12. Temp. 40°.

Olivenöl ccm	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren		
				nach		
				1 St. 55′	6 St. 25′	24 St.
10	5	—	60	2,8	3,6	3,9
10	5	10	50	3,0	—	5,6
10	5	20	40	3,7	9,2	18,0
10	5	40	20	5,6	10,4	21,4
10	5	60	—	10,2	11,4	14,6

Ein Zusatz von Glycerin zu einer Mischung von Öl und Pankreassaft vergrößert die Spaltungsschnelligkeit bedeutend.

Sobald einmal diese Tatsache festgestellt war, blieben noch die Ursachen dieser Beschleunigung zu ergründen. Wenn man in den vorhergehenden Versuchen den Wert der Beschleunigung betrachtet, welche durch Zusatz von Glycerin zu einer Mischung von Pankreassaft und emulsioniertem Öl hervorgerufen wird, so sieht man, daß dieser Wert merklich beständig ist; er wechselt von 1,5 bis 2 im Vergleich zu folgender Kontrollmischung: 20 Emulsion + 5 Pankreassaft + 10 Glycerin + 10 Wasser.

Wenn man aber anstatt der Ölemulsion, welche durch Schütteln mit einer $2^0/_{00}$ Lösung von Na_2CO_3 bereitet ist, nicht emulsioniertes Öl gebraucht, so beobachtet man, daß, wenn auch alle anderen Bedingungen sich gleich bleiben, die Spaltungsschnelligkeit des Glyceringemisches ungefähr 5 mal größer ist als die der Kontrolle. Die Beschleunigung durch das Glycerin ist also viel größer, wenn man den Saft auf ein nicht vorher emulsioniertes Öl wirken läßt.

Zudem verändert noch ein Zusatz von Glycerin das Aussehen der Mischungen. Die Ölemulsion bleibt nicht beständig; nach und nach kommt das Öl an die Oberfläche; das Glycerin verlangsamt das Sammeln des Öles an der Oberfläche, und manchmal verhindert es dasselbe sogar. Dieselbe Tatsache wird mit nicht vorher emulsioniertem Öl beobachtet. Es geht daraus hervor, daß in allen Fällen die dauernden Mischungen viel homogener sind, wenn man ihnen Glycerin zufügt.

Diese doppelte Beobachtung — bedeutendere Beschleunigung im Falle von nicht emulsioniertem Öl, Homogenität der dauernden Mischungen — macht es wahrscheinlich, daß die beschleunigende Wirkung des Glycerins, wenigstens zum größten Teil, darauf beruht, daß durch die in Suspension festgehaltenen Fetttröpfchen eine Vergrößerung der Angreifsoberfläche des Öles durch das Ferment entsteht.

Wie konnte man die Richtigkeit dieser Hypothese feststellen? Indem man zeigte, daß 1. einerseits, wenn die Größe der sich berührenden Flächen des Fettes und des einwirkenden Fermentes nicht verändert werden kann, das Glycerin keine Beschleunigung hervorruft; 2. daß andererseits ein Zusatz von Körpern, welche dieselbe Viscosität wie das Glycerin haben, eine Spaltungsschnelligkeit hervorruft, die der des Glycerins vergleichbar ist.

1. Zur Untersuchung der Fälle, wo an der Flächenberührung des zu spaltenden Fettes mit dem Ferment nichts verändert werden sollte, haben wir uns drei verschiedener physikalischer Zustandsformen bedient:

a) Vollständige Lösungen in Wasser (Monobutyrin-Triacetin).

b) Natürliche, sehr vollständige Emulsionen (Sahne-Eigelb).

c) Feste Fettwürfel, die bei der Temperatur der Versuche nicht schmelzbar waren (Speck, Hammelfett).

Versuch 1. Temp. 40°.

Monobutyrinlösung 2% ccm	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach 2 St. 10′
20	5 (gekochter)	—	20	0,5
20	5	—	20	1,6
20	5	5	15	1,5
20	5	10	10	1,3
20	5	20	—	1,6

Versuch 2. Temp. 40°.

Triacetin ccm	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach $6^1/_2$ St.
0,5	2	—	10	10,6
0,5	2	1	9	11,3
0,5	2	5	5	10,3
0,5	2	10	—	6,8

Versuch 3, 4 und 5. Temp. 40°.

Sahne ccm	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach		
				2 St. 5′	5 St. 30′	22 St.
20	—	—	25	1,3	1,4	2,1
20	5 (gekocht.)	—	20	1,7	2,5	3,4
20	5	—	20	8,7	11,0	13,2
20	5	5	15	9,0	11,0	13,9
20	5	10	10	8,3	11,3	12,9
20	5	15	5	7,7	10,4	11,8
20	5	20	—	7,8	10,1	11,1

Versuch 3, 4 und 5. Temp. 40°.

(Fortsetzung.)

Sahne ccm	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach 2 St. 25′	nach 6 St. 45′	nach 21 St.
20	5	—	20	4,9	6,7	8,8
20	5	20	—	4,8	6,5	7,1

				nach 2 St.	nach 5 St. 25′
20	5	—	20	3,8	5,4
20	5	5	15	3,9	5,3
20	5	10	10	3,7	5,1
20	5	15	5	3,6	5,0
20	5	20	—	3,6	4,4

Versuch 6. Temp. 40°.

Eigelbemulsion ccm	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach 5 St. 40′	nach 22 St.
20	—	—	25	3,3	4,3
20	5 (gekocht.)	—	20	3,3	4,8
20	5	—	20	13,7	16,7
20	5	5	15	12,6	17,6
20	5	10	10	13,5	16,4
20	5	15	5	10,1	15,7
20	5	20	—	10,7	14,1

Versuch 7. Temp. 40°.

(Aseptisch.)

Hammelfett g	Pankreassaft ccm	Glycerin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach 6 Tagen
1	2	—	10	3,9
1	2	1	9	4,2
1	2	2	8	4,6
1	2	5	5	6,6
1	2	10	—	2,3

Die Resultate dieser Experimente zeigen, daß das Hinzufügen von Glycerin nicht oder nur wenig die Fettspaltung der gelösten Fette, der natürlichen Emulsionen und der festen Fette beschleunigt.

2. Wenn man zu einer Mischung von Öl und Pankreassaft irgendeine viscöse Substanz hinzufügt, erhält man sofort eine viel homogenere Mischung als durch den Zusatz von Glycerin. In diesen Fällen, wo man also die sich berührenden Flächen der zu spaltenden Körper vergrößert, beobachtet man eine Beschleunigung von derselben Art wie die durch das Glycerin bedingte. In diesen Versuchen haben wir, um die chemische Wirkung der Körper auszuschalten, sehr verschiedene Substanzen angewendet, wie arabisches Gummi, Tragantgummi, Eialbumin, Saccharose.

Versuch 1. Temp. 38°.

Tragantgummi.

Olivenöl ccm	Pankreassaft ccm	Gummilösung ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach 6 St. 40′
20	5	—	10	12,5
20	5	1	9	14,3
20	5	2	8	15,9
20	5	5	5	18,4
20	5	10	—	20,2
—	5	10	—	0,4

Versuch 2, 3 und 4. Temp. 38°.

Arabisches Gummi.

Olivenöl ccm	Pankreassaft ccm	Gummilösung ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren		
				nach		
				1 St. 30′	4 St. 30′	8 St.
20	5	—	10	8,8	11,9	13,4
20	5	1	9	12,7	17,5	19,1
20	5	2	8	14,0	17,9	29,0
20	5	5	5	15,7	21,0	30,3
20	5	10	—	20,9	30,3	—
				nach		
				2 St. 25′		6 St. 40′
—	5	10	20	0,9		0,9
20	5	—	10	4,6		5,1
20	5	2	8	9,1		14,1
20	5	5	5	8,7		14,9
20	5	10	—	12,1		16,8

Versuch 2, 3 und 4. Temp. 38°.
Arabisches Gummi. (Fortsetzung.)

Olivenöl ccm	Pankreassaft ccm	Gummilösung ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren.		
				nach		
				2 St. 35′	6 St. 25′	22 St.
—	5	10	20	1,0	1,0	1,0
20	5	—	10	2,6	5,0	5,2
20	5	1	9	7,2	9,9	10,1
20	5	2	8	6,8	10,6	14,8
20	5	5	5	8,5	12,8	16,0
20	5	10	—	8,5	13,6	15,3

Versuch 5. Temp. 38°.
Eialbumin.

Olivenöl ccm	Pankreassaft ccm	Eialbumin ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren		
				nach		
				1 St. 45′	5 St. 45′	9 St. 45′
20	5	—	20	2,5	3,6	4,4
20	5	10	10	6,7	13,2	18,9

Versuch 6. Temp. 38°.
Saccharose.

Olivenöl ccm	Pankreassaft ccm	Sacch.-Sirup ccm	Wasser ccm	Nötige Menge in Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren	
				nach	
				2 St.	6 St. 40′
20	5	—	10	5,8	8,9
20	5	10	—	34,1	40,1
—	5	10	20	1,0	1,5

Das Hinzufügen von irgendwelchen viscösen Substanzen zu einer Mischung von Öl und Pankreassaft beschleunigt die Spaltungsschnelligkeit bedeutend.

Alle diese Tatsachen bestätigen die früher gemachte Voraussetzung. Die durch das Glycerin hervorgebrachte Beschleunigung der Spaltungsschnelligkeit des Öles durch den Pankreassaft muß zum größten Teil der Vergrößerung

der sich berührenden Flächen des zu spaltenden Körpers und des Ferments zugeschrieben werden.[1])

II. Wirkung der Temperatur.

Das Studium der Temperatur ist für jeden katalytischen Prozeß, namentlich für Fermentreaktionen höchst wichtig. Bei der Lipase bietet dieses Studium noch mehr Interesse als bei den meisten anderen Enzymen. Die Lipase hydrolysiert nämlich eine große Anzahl Körper, deren physikalischer Zustand sehr verschieden ist; manchmal sind der zu spaltende Körper und die Produkte der Hydrolyse vollständig löslich, und die Reaktion findet dann in einem homogenen Medium statt (dies ist der Fall für das Triacetin und für eine große Zahl löslicher Ester); bisweilen sind der hydrolysierte Körper und die Produkte der Hydrolyse total unlöslich, und die Reaktion findet alsdann in einem heterogenen Milieu statt (dies ist der Fall bei den Fetten). Im ersten Falle muß die Schnelligkeit der Fermentwirkung fast total der Schnelligkeit der chemischen Reaktion zugeschrieben werden, im zweiten Fall ist die Schnelligkeit die Resultante einer Reaktionsschnelligkeit und einer Diffusionsgeschwindigkeit; man kann also schon im voraus vermuten, daß die Temperaturverschiedenheiten ungleich auf diese Fermenthydrolysen wirken.

1. Wirkung der Temperatur auf die Spaltungsschnelligkeit.

In folgenden Versuchen haben wir die Schnelligkeit der Hydrolyse des Öls, des Äthylbutyrats, des Triacetins durch den reinen oder den mit Gallensalzen versetzten Pankreassaft geprüft. Die Spaltungswerte sind in Prozenten ausgedrückt.

Versuch 1.

Triacetin. (Jede Versuchsflasche enthält 10 Tropfen Triacetin, 1 ccm Pankreassaft, 9 ccm Wasser.)

Temperatur Grad	Spaltungswerte nach: 1 St.	3 St. 20′	7 St. 30′	23 St.
54	1,0	1,4	1,4	1,4
40	3,8	8,2	8,8	—
26	3,6	8,0	8,5	15,5
15	1,1	4,6	4,7	10,3
0	0,6	1,1	1,5	—

[1]) Vgl. L. Kalaboukoff und Terroine, Compt. rend. Acad. des Sciences, 19. Okt. 1908.

Versuch 2.

Triacetin. (Jede Versuchsflasche enthält 10 Tropfen Triacetin, 1 ccm Pankreassaft, 9 ccm Gallensalze 0,5%.)

Temperatur Grad	Spaltungswerte nach: 1 St.	3 St. 20′	7 St. 30′	23 St.
54	0,7	1,4	1,4	1,4
40	11,9	19,4	19,7	—
26	8,2	16,8	21,8	22,8
15	5,3	10,5	14,6	21,5
0	1,2	3,5	7,5	13,2

Versuch 3.

Äthylbutyrat. (Jede Versuchsflasche enthält 15 Tropfen Äthylbutyrat, 1 ccm Pankreassaft, 9 ccm Wasser.)

Temperatur Grad	Spaltungswerte nach: 1 St.	3 St. 20′	7 St. 30′	23 St.
54	0,0	0,6	1,2	—
40	0,4	0,8	4,8	—
26	0,6	9,0	10,6	12,8
15	0,6	3,8	11,2	14,4
0	0,4	0,8	3,4	6,8

Versuch 4.

Äthylbutyrat. (Jede Versuchsflasche enthält 15 Tropfen Äthylbutyrat, 1 ccm Pankreassaft, 9 ccm Gallensalze 0,5%.)

Temperatur Grad	Spaltungswerte nach: 1 St.	3 St. 20′	7 St. 30′	23 St.
54	—	2,6	4,2	9,4
40	18,0	28,0	30,2	—
26	12,2	22,2	26,4	28,4
15	5,8	13,0	19,8	29,4
0	2,0	5,0	9,8	16,8

Versuch 5.

Olivenöl. (Jede Versuchsflasche enthält 2 ccm Öl, 2 ccm Pankreassaft, 6 ccm Wasser.)

Temperatur Grad	Spaltungswerte nach: 1 St.	3 St. 20′	7 St. 30′	23 St.
54	0,9	1,3	2,3	—
40	6,6	10,3	14,0	23,3
26	6,3	10,2	13,4	18,6
15	2,9	4,7	5,4	8,0
0	1,0	1,1	1,4	2,9

Versuch 6.

Olivenöl. (Jede Versuchsflasche enthält 2 ccm Öl, 2 ccm Pankreassaft, 6 ccm Gallensalze 5%.)

Temperatur Grad	Spaltungswerte nach:			
	1 St.	3 St. 20′	7 St. 30′	23 St.
54	0,5	1,1	1,1	1,3
40	22,1	25,5	30,7	—
26	14,9	22,2	25,1	27,9
15	10,7	16,4	19,3	—
0	—	6,4	7,0	7,8

Aus diesen Resultaten gehen folgende Tatsachen hervor:

1. Die Hydrolyse ist fast Null bei einer Temperatur von 54°.

2. Die Hydrolyse ist bei 0° noch sehr deutlich.

3. Die optimale Wirkungstemperatur liegt nahe bei 40°.

4. Die Hydrolyse des Öles ist den Temperaturänderungen gegenüber ein wenig empfindlicher als die des Äthylbutyrats oder des Triacetins. Dies geht klar aus folgenden Kurven hervor, wo die Zeiten als Abszissen, die Spaltungswerte als Ordinaten aufgetragen sind.

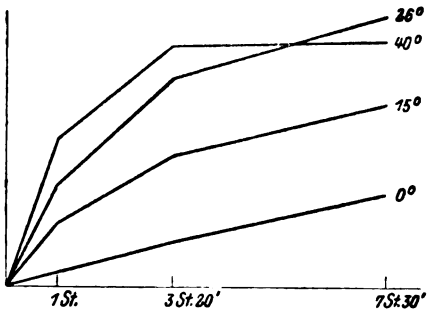


Fig. 1. Einfluß der Temperatur auf die Spaltungsgeschwindigkeit des Triacetins durch den Pankreassaft.

Ohne genau die Ursache dieser Verschiedenheit angeben zu wollen, scheint es uns, daß sie zum größten Teil den Variationen in der Viscosität des Öls mit der Temperatur zugeschrieben werden muß, Variationen, welche seine Mischungsfähigkeit mit der Fermentlösung beeinflussen.

2. Empfindlichkeit der Lipase gegen Wärme.

Die Verminderung der Hydrolyse bei 54° ist ohne jeden Zweifel der Vernichtung der Lipase zuzuschreiben, aber wir haben uns dennoch auf genauere Weise von der Empfindlichkeit des Enzyms gegen verschiedene Temperaturen überzeugen wollen. Zu diesem Zwecke sind gleiche Quantitäten Pankreassaft auf be-

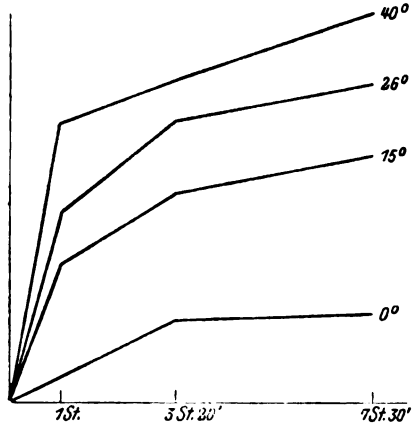


Fig. 2. Einfluß der Temperatur auf die Spaltungsgeschwindigkeit des Trioleins durch den Pankreassaft.

stimmte Temperaturen gebracht worden, dann wurde ihnen Olivenöl hinzugefügt, und sie wurden im Thermostaten bei 40° 6 Stunden lang belassen. Die Titration der gebildeten Säuren gibt das Maß ab für die spaltende Wirkung des Saftes. Die zwei folgenden Tabellen vereinigen die Resultate, welche sich auf dieses Thema beziehen.

Tabelle I.

Pankreassaft für sich.

Temperatur Grad	Dauer der Erwärmung Minuten	Vers. 1	Vers. 2	Vers. 3	Vers. 4	Vers. 5	Vers. 6
nicht erwärmt		14,3	24,5	18,8	25,6	13,2	17,6
45	10		22,8	16,0	16,9	8,2	11,4
45	30			14,9			
50	10		12,0	10,9	13,5	4,7	7,7
50	30			3,0			
55	10		0,4	0,6	1,8	1,4	1,0
60	10	4,5	0,0		1,3	1,4	0,1
65	10	0,4				0,2	

Tabelle II.

Pankreassaft mit Gallensalzen.

Temperatur Grad	Dauer der Erwärmung Minuten	Vers. 1	Vers. 2	Vers. 3	Vers. 4	Vers. 5	Vers. 6
nicht erwärmt		14,4	20,5	5,9	25,7	13,6	28,4
45	10		14,0	3,8	6,8	11,1	13,8
45	30			0,7			
50	10		0,8	0,3	1,4	1,4	5,8
50	30			0,3			
55	10		0,4	0,1	0,7	0,7	0,9
60	10	0,1	0,2		0,7	0,6	0,0
65	10	0,0	0,0				

Aus diesen Versuchen kann man schließen, daß:

1. Pankreassaft, 10 Minuten lang auf 65° erwärmt, verliert jede lipolytische Kraft.

2. Die Lipase ist der Erwärmung gegenüber sehr empfindlich, 10 Minuten lange Einwirkung einer Temperatur von nur 45° vermindert ihr Fettspaltungsvermögens.

3. Die Empfindlichkeit der lipolytischen Kraft gegen Erwärmung wird noch größer, wenn dem Safte Gallensalze zugefügt werden. In diesem Falle genügt fast immer eine 30 Minuten lange Erwärmung auf 45°, um die Lipase total zu vernichten.

Wir werden später noch genauer auf diese Wirkung der Gallensalze auf den Pankreassaft zurückkommen.

III. Einfluß des Reaktionsmilieus.

Die Arbeiten der letzten Jahre haben gezeigt, welche bedeutende Wichtigkeit die Reaktion des Milieus für den Ablauf der Fermentvorgänge hat,

Für den Pankreassaft habe ich gemeinsam mit Herrn Bierry[1]) zeigen können, daß dieser Saft an sich keine Maltase zu enthalten scheint, jedoch vorzüglich imstande ist, nach vorheriger Neutralisation Stärke bis zur Glucose abzubauen. Das einfache Neutralisieren hat also ein Ferment manifest gemacht, das bis jetzt im Pankreassaft nicht gefunden worden war. Außerdem hat Bierry[2]) gezeigt, daß die amylolytische Fähig-

[1]) Bierry und Terroine, Soc. de Biol. 57, I, 869.

[2]) Soc. de Biol. 57, II, 257.

keit des Saftes viel mächtiger ist, wenn die Alkalinität des Saftes teilweise neutralisiert wird.

Diese neuen Tatsachen ließen das Studium der Wirkung des Reaktionsmilieus auf das Fettspaltungsvermögen des Pankreassaftes unbedingt notwendig erschienen. Dieses Studium bietet zunächst eine Schwierigkeit: Wie kann man die wahre Reaktion des Milieus bestimmen? Der Pankreassaft nach Sekretinsverabfolgung, welcher in unseren Versuchen benutzt wird, hat eine Alkalinität entsprechend $^n/_7$; diese Alkalinität rührt zum großen Teil von Natriumcarbonat her.[1]) Diese Alkalinität ist zwar titrimetrisch zu ermitteln; sie ist aber die potentiale, totale Alkalinität des Saftes und nicht die wahre aktuelle Alkalinität, die einzige, die uns hier interessiert. Es schien uns nicht richtig, diese Alkalinität durch mehrmaliges Hinzufügen einer titrierten Säure zu vermindern und daraus auf eine bestimmte Reaktion zu schließen. Wir haben es vorgezogen, den Saft mit einer schwachen Säure, z. B. Essigsäure, zu neutralisieren und ihn nachher auf eine bestimmte Alkali- oder Säurekonzentration durch Zusatz von titrierten Lösungen zu bringen. Wir haben also Fermentlösungen von bekannter Alkalinität oder Acidität gehabt, denen wir völlig neutrales Olivenöl zugefügt haben. Unter diesen Umständen war es uns möglich, die wichtige Rolle des Reaktionsmilieus bei der Spaltung der Fette ins rechte Licht zu setzen.

Die folgenden Versuche bestätigen das. Alle Mischungen enthalten: 5 ccm neutralen Saft, 5 ccm neutrales Olivenöl und 5 ccm einer solchen Lösung von Alkali oder Säure, daß man in der Gesamtmischung die gewünschte Konzentration hatte.

Die Zahlen zeigen Kubikzentimeter von $^n/_{10}$-NaOH an.

Versuch 1. Temp. 40°.

Konzentration	NaHO	$CH_3 . CO_2H$
0	12,8	12,8
$^n/_{750}$	17,4	9,4
$^n/_{300}$	21,8	5,9
$^n/_{150}$	23,5	4,3
$^n/_{75}$	21,3	
$^n/_{45}$	0,7	
$^n/_{15}$	0,0	

[1]) Compt. rend. Acad. d. Sciences 1905.

Versuch 2. Temp. 40°.

Konzentration	NaOH	$CH_3 . CO_2H$	HCl
0	25,6	25,6	25,6
$^n/_{300}$	32,2	20,9	25,0
$^n/_{150}$	35,8	—	17,0
$^n/_{45}$	25,7	11,5	3,0
$^n/_{15}$	0,0	0,0	0,0

Diese Versuche lehren sofort verschiedene Tatsachen:

1. Der neutrale Pankreassaft besitzt noch eine bedeutende lipolytische Aktivität.

2. Das saure Milieu ist der lipolytischen Wirkung wenig günstig, diese Wirkung nimmt ab und verschwindet. Sie verschwindet schneller, wenn die Säure aus stark dissoziierter Salzsäure besteht, als aus schwach dissoziierter Essigsäure.

3. Das schwach alkalische Milieu scheint für die Fettspaltung sehr günstig zu sein, jedoch verhindern starke Konzentrationen sofort die lipolytische Wirkung.

Das genauere Studium der Wirkung des alkalischen Milieus hat dazu geführt, einen Höhepunkt der Wirkung aufzufinden; dieser Höhepunkt liegt sehr nahe bei einer NaOH-Konzentration von $^n/_{150}$.

Die folgenden Versuche, die in ähnlicher Weise wie die vorhergehenden angestellt sind, lassen diese Tatsache sehr klar hervortreten.

NaOH-Konzentration	Vers. 1	Vers. 2	Vers. 3	Vers. 4	Vers. 5
0	3,2	1,6	4,2	8,5	14,4
$^n/_{300}$	—	2,1	8,5	36,5	50,1
$^n/_{150}$	13,6	10,8	25,3	75,7	70,6
$^n/_{100}$	1,5	3,9	10,6	57,0	62,4
$^n/_{75}$	0,4	1,1	2,6	6,5	4,6
$^n/_{60}$	0,0	0,4	0,9	0,0	2,0
$^n/_{30}$		0,0	0,0		0,0

Wir können also behaupten, daß ein Optimum der Alkalinität für die Pankreaslipase existiert. Weiter kann man angeben, daß in anbetracht des Alkaligehaltes des Saftes die Konzentration in den von Bierry aufgestellten Fällen der Amylase nicht die günstigste für die lipolytische Wirkung war.

Die optimale Alkalikonzentration ist verhältnismäßig schwach, nahe an $^n/_{150}$. Es scheint also möglich, daß, wenn der Pankreassaft teilweise durch den Chymus neutralisiert wird, sein Fettspaltungsvermögen am wirksamsten zum Ausdruck kommt.

In bezug auf den Einfluß der Alkalinität erheben sich zwei Fragen:

A. Hatte die chemische Natur des verwendeten Alkalis einen Einfluß?

Wir haben festgestellt, daß, wenn man anstatt NaOH Na_2CO_3 oder NH_3 in äquimolekularen Konzentrationen nimmt, man sehr ähnliche Resultate erhält, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht:

Konzentration	Na_2CO_3	NH_4OH
0	4,7	4,7
$^n/_{300}$	7,1	7,6
$^n/_{150}$	33,9	9,4
$^n/_{100}$	37,0	48,4
$^n/_{75}$	41,3	42,2
$^n/_{60}$	33,9	41,8
$^n/_{30}$	0,0	14,2
$^n/_{15}$	—	5,2
$^n/_{7,5}$	—	0,0

Man sieht aus diesen Versuchen, daß $NH_4 . OH$ in schwacher Konzentration der Natronlauge ähnliche Werte liefert; nur das Eintreten der hemmenden Konzentration ist viel weiter hinausgeschoben; denn während die Lipolyse immer durch etwas mehr als $^n/_{60}$-NaOH gehemmt wird, übt Ammoniak seine verhindernde Wirkung erst in 8mal höherer Konzentration, bei $^n/_{7,5}$ aus.

B. Wirkt der Alkalizusatz nicht einfach emulsionierend auf das Öl?

Wenn man neutralisierten Saft gebraucht, bemerkt man leicht, daß er nicht imstande ist, Öl zu emulsionieren. Nun wissen wir jetzt, von welcher Wichtigkeit diese Veränderung für die Schnelligkeit der Hydrolyse ist. Besteht die Wirkung der Alkalinität denn allein darin, daß sie die zu spaltenden Fette emulsioniert, und also den Enzymangriff erleichtert, während das Ferment selbst nicht verändert wird?

Versuche, in denen die Mischungen im Zustande völliger Emulsion festgehalten worden sind, haben uns ähnliche Resultate gegeben, wie es folgende Zahlen zeigen:

NaOH-Konzentration	Vers. 1	Vers. 2
0	9,9	12,8
$^n/_{300}$	16,2	21,8
$^n/_{150}$	25,9	23,5
$^n/_{75}$	20,7	21,3
$^n/_{45}$	7,9	0,7
$^n/_{15}$	0,0	0,0

Die optimale Alkalikonzentration bildet also die für das Ferment selbst günstigste Wirkungsbedingung und ist von dem physikalischen Zustande der zu spaltenden Körper unabhängig.

Berichtigungen.

In Band 23,

S. 48, Zeile 3 lies:

$C_{18}H_{30}N_2O_{12}$ statt $C_{14}H_{26}N_2O_{10}$;

S. 325, Zeile 3 von unten lies:

$-1^0 20'$ statt $+1^0 20'$.

In der Arbeit von Hata, Über die Bestimmung des Pepsins usw., Band 23, ist S. 184 u. 185 versehentlich nicht erwähnt, daß Kurve 1 die Verdauung bei 37,5 bis 38°, Kurve 2 und 3 die Verdauung bei 18 bis 19° darstellt. — S. 185 Zeile 11 lies 8mal statt 3mal.

Zur Kenntnis der Fettspaltung durch Pankreassaft. II.

Von

Emile F. Terroine.

(Aus dem Laboratorium für physiko-chemische Physiologie der École pratique des Hautes Études, Collège de France, Paris.)

(Eingegangen am 7. Dezember 1909.)

(Mit 4 Figuren im Text.)

IV. Wirkung der Elektrolyten.

Man weiß schon lange, daß die Elektrolyten die Eigenschaft besitzen, gewisse Enzymwirkungen beträchtlich zu beschleunigen. Zahlreiche Arbeiten haben z. B. die Rolle der Kalksalze für die Gerinnung des Blutes und der Milch wie für die Wirkung der Pectase, der Mangansalze für die Oxydasen, der Alkalihalogenide auf die Amylase dargetan.

Larguier des Bancels[1]) hat zuerst eine Fermentwirkung manifest werden lassen, indem er gewisse chemische Substanzen zu einer total unwirksamen Substanz fügte. Nach langen Untersuchungen, die zweifellos zeigten, daß der Pankreassaft durch eine Lösung gekochter Kinase wirksam wird, versuchte Larguier des Bancels den Saft durch definierte chemische Substanzen in Gang zu bringen. Es gelang ihm in der Tat, einem inaktiven Saft ein starkes proteolytisches Vermögen durch gleichzeitigen Zusatz von Kolloiden und zweibasischen Metallsalzen zu verleihen.

Später zeigte Delezenne[2]), daß die Salze der Erdalkalien und besonders die Kalksalze den Pankreassaft aktivieren können. Endlich beobachteten Henry, Bierry und Giaja[3]), daß der Pankreassaft nach langem Dialysieren gegen Stärke vollständig unwirksam wird, durch Zusatz von Chlornatrium gaben sie ihm seine amylolytischen Eigenschaften wieder.

---

[1]) Larguier des Bancels, Soc. de Biol. 57, II, 130.

[2]) Delezenne, Soc. de Biol. 57, II, 476.

[3]) Henry, Bierry und Giaja, Soc. de Biol. 58, I, 476.

Tatsachen von solcher Wichtigkeit verlangen eine systematische Bearbeitung über die Wirkung der Elektrolyten auf die Pankreaslipase, um so mehr, als über dieses Thema nur einige, z. T. irrtümliche Beobachtungen existieren, die Untersuchungen über Pankreasextrakte betreffen.

Pottevin[1]) benutzte Pankreasmacerationen und beobachtete, daß ein Hinzufügen von Salzen zweibasischer Metalle das lypolytische Vermögen dieser Macerationen beträchtlich erhöht. Loevenhart und Peirce[2]) schreiben dem Natriumfluorid eine spezifisch hindernde Rolle den Lipasen gegenüber zu (Pankreas- und Leberextrakte). Endlich beobachtete Magnus[3]) eine beschleunigende Wirkung des Mangansulfats auf die Pankreaslipase.

Damit eine diesbezügliche Arbeit die gewünschte Genauigkeit besitzt, ist es nötig gewesen, neben dem natürlichen Pankreassaft einen dialysierten Saft, frei von seinen Elektrolyten, zu benutzen. Es ist uns leider unmöglich gewesen, dem dialysierten Saft sein lypolytisches Vermögen zu erhalten; in weniger als 36 Stunden enthält die Flüssigkeit des Dialysators keine Lipase mehr. Es ist dies zweifellos eine Unvollkommenheit unserer Arbeit, aber wir glauben dennoch, daß die mit normalem Pankreassaft erhaltenen Resultate nicht ohne Interesse sind. Alle unsere Versuche sind mit mehrmals umkrystallisierten Salzen gemacht worden.

1. Wirkung der Natriumsalze.

A. Halogensalze.

Unsere Untersuchungen betrafen zuerst die Halogenverbindungen des Natriums: Chlorid, Bromid, Jodid und Fluorid. Alle Mischungen enthalten 5 ccm Olivenöl und 5 ccm Pankreassaft. Die Versuche sind miteinander vergleichbar, denn die verschiedenen Salze sind stets in äquimolekularen Quantitäten benutzt.

(Die Zahlen geben das zur Neutralisation nötige Quantum $^{n}/_{20}$-NaOH, nach Verdauung im Thermostaten bei 40° ohne Rührung an.)

---

[1]) Pottevin, Compt. rend. Acad. d. Sc. 136, 767.

[2]) Loevenhart und Peirce, Americ. Journ. of Biolog. Chem. 2, 397.

[3]) Magnus, Zeitschr. f. physiol. Chem. 48, 376.

Versuch 1.

Einwirkungszeit 6 St.

Salzkonzentration	NaCl	NaBr	NaJ	NaF
0	14,7	14,7	14,7	14,7
n/20	25,5	31,8	17,5	7,7
n/10	27,9	30,6	25,2	
n/4	19,6	22,1	22,7	
n/2	10,0	12,9	2,7	
n	11,8	1,8	1,5	
2 n	5,1	1,7	1,6	

Versuch 2 (identisch).

Einwirkungszeit 6 St.

0	7,9	7,9	7,9	7,9
n/400	9,1	12,3	9,8	13,6
n/20	16,8	18,9	15,6	11,2
n/10	18,8	21,1	19,1	
n/2	20,8	20,8	12,6	
n	19,8	8,8	2,6	
2 n	17,0	3,1	2,4	

Versuch 3 (identisch).

Einwirkungszeit 6 St. 35'.

0	4,1	4,1	4,1	4,1
n/300	5,5	8,2	8,0	9,9
n/60	13,4	13,5	12,6	13,3
n/30	13,4	13,5	14,7	10,0
n/7,5	14,2	15,8	16,3	
n/3	16,8	13,1	10,1	
4/3 n	6,5	3,8	1,5	
2 n	5,6	2,3	1,1	

Versuch 4 (identisch).

Einwirkungszeit 4 3/4 St.

0	3,2	3,2	3,2	3,2
n/120	4,6	3,5	2,8	4,3
n/30	11,6	4,9	4,1	5,6
n/15	15,8	9,5	9,6	8,3
n/3	12,0	12,8		
3 n	6,7	2,0		

Versuch 5 (identisch).

Einwirkungszeit 5 1/2 St.

0	4,5	4,5	4,5	4,5
n/20	7,3	7,6	6,0	5,9
n/30	7,7	8,0	7,5	6,4
n/15	11,4	11,7	8,4	6,6
n/3	17,0	14,4	5,6	
3 n	9,5	3,5	1,9	

Die folgenden Versuche sind genau unter denselben Bedingungen angestellt worden, aber anstatt Pankreassaft allein zu benutzen, haben wir uns einer Mischung von Saft und Gallensalzen bedient. Es war interessant festzustellen, ob die Phänomene dieselben bleiben, wenn das Ferment beschleunigt wird. Die Konzentration der Gallensalze betrug 2,85 % in allen angewandten Mischungen.

Versuch 1.

Einwirkungszeit 6 St.

Salzkonzentration	NaCl	NaBr	NaJ	NaF
0	5,5	5,5	5,5	5,5
n/300	8,0	7,2	9,3	7,6
n/120	9,4	8,9	9,7	8,2
n/30	10,5	—	—	9,0
n/15	12,5	—	9,5	6,5
n/7,5	12,0	—	9,0	
n/3	14,2	11,5	8,0	
4/3 n	7,6	2,8	1,6	
2 n	7,7	2,4	1,5	
3 n	6,1	1,8	1,0	

Versuch 2.

Einwirkungszeit 6 St.

0	14,2	14,2	14,2	14,2
n/300	15,7	19,4	15,8	14,3
n/120	16,3	23,4	21,2	19,9
n/30	17,0	22,6	22,0	18,8
n/15	23,6	20,4	18,5	15,3
n/7,5	21,6	22,2	15,3	
n/3	17,8	19,1	11,7	
4/3 n	14,4	3,5	1,8	
2 n	10,5	2,6	1,7	
3 n	7,3	2,0	1,5	

Aus den obengenannten Versuchen ergeben sich sofort, unabhängig von jeder Auslegung, folgende Tatsachen:

1. Natriumchlorid, -bromid, -jodid und -fluorid vergrößern die Spaltungsschnelligkeit des Öls durch den Pankreassaft beträchtlich.

Der Höhepunkt der Wirkung entspricht einer für jedes der Salze verschiedenen Konzentration, die vom Chlorid über das Bromid und Jodid zum Fluorid hin abnimmt.

Es ist außerdem zu bemerken, daß, wenn man nur ein einzelnes dieser Salze betrachtet, weder die Stellung des Höhe-

punktes der Konzentration gegenüber, noch der Wert der Beschleunigung in allen Versuchen gleich bleibt. Es scheint, daß die Beschleunigung im allgemeinen um so stärker ist, wenn der Pankreassaft an sich weniger aktiv ist, und daß die optimale Konzentration (die für Natriumchlorid von $^n/_{15}$ bis $^n/_2$ schwankt) auch um so höher wird, je weniger aktiv der Saft allein ist.

Dieses erste Resultat zeigt ein gewisses physiologisches Interesse. Wir sehen in der Tat, daß der Höhepunkt der Wirkung am ehesten durch eine Chlornatriumkonzentration in der Nähe von $^n/_{15}$ erreicht wird, und eine solche Konzentration kann recht gut infolge der Neutralisierung der Magensalzsäure im Darm existieren. **Das Vorhandensein von Salz im Darme kann manchmal die Fettverdauung um das Vierfache beschleunigen.**

2. Natriumchlorid, -bromid, -jodid und -fluorid hemmen in starken Konzentrationen beträchtlich die Schnelligkeit der Verdauung des Öls durch den Pankreassaft. Diese Verminderung geht schneller und stärker vor sich, wenn der obengenannte Höhepunkt überholt ist, wenn man vom Chlorid über das Bromid zum Jodid und Fluorid übergeht. Wir sehen also durch diese Beobachtungen, daß es absolut ungenau ist, dem Fluorid eine spezifisch hindernde Rolle der Lipase gegenüber zuzuschreiben, wie es Loevenhart und Peirce getan haben. Die Eigenheit dieser Wirkung geht überhaupt nur aus dem Falle hervor, daß die Verfasser die anderen Salze derselben Serie nicht ausprobiert haben. In der Tat verhalten sich die Halogenverbindungen des Natriums in ganz ähnlicher Weise: alle wirken beschleunigend auf gewisse Konzentrationen, alle wirken hindernd auf gewisse andere Konzentrationen. Es bestehen in ihrer Wirkungsweise nur Konzentrationsverschiedenheiten und keine Artunterschiede. Überhaupt, wenn man graphisch die Ergebnisse einer Beobachtung darstellt, die angewandten Salzkonzentrationen als Abszissen und die im Vergleich mit der Kontrolle positiven oder negativen Beschleunigungswerte als Ordinaten, wird man sich noch besser von der erwähnten Tatsache überzeugen: in der Tat üben die geprüften Salze dieselben Wirkungen aus, aber mit verschiedenen Konzentrationen.

B. Nitrat, Sulfat, Oxalat, Phosphat.

Na-Sulfat und -Oxalat verhalten sich ähnlich wie die Chloride, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht.

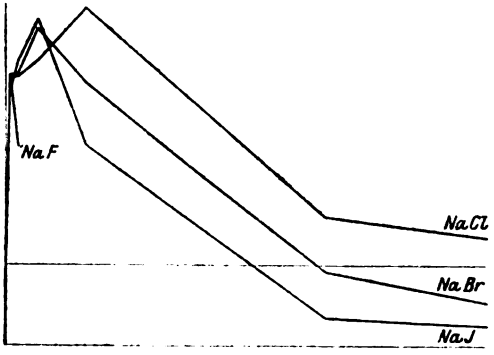


Fig. 1. Vergleich der Wirkung von Halogen-Natriumsalzen auf die Ölspaltung durch Pankreassaft.

Versuch 1.

Einwirkungszeit $6^3/_4$ St.

Salzkonzentration	NaCl	$NaNO_3$	Na_2SO_4	$Na_2C_2O_4$
0	4,3	4,3	4,3	4,3
$^n/_{30}$	4,8	4,3	4,6	5,1
$^n/_{15}$	5,1	4,2	4,4	5,6
$^n/_8$	6,3	5,6	7,9	
3 n	2,0	2,6	7,9	

Versuch 2.

Einwirkungszeit $6^1/_2$ St.

0	3,5	3,5	3,5	3,5
$^n/_{120}$	5,0	5,9	5,7	4,5
$^n/_{15}$	6,5	6,9	7,0	7,3
$^n/_8$	9,6	9,1	10,3	
3 n	6,0	4,1	12,0	

Das Studium der Wirkung der Phosphorsäure als Natriumsalz erschien uns unmöglich. Wir verstehen nicht, wie man ihre Wirkung bei irgendeinem enzymatischen Vorgange beobachten kann. Gleich nach der Entdeckung der löslichen Fermente hat man der Reaktion ihres Milieus eine große Wichtigkeit zugeschrieben. Die neuesten Untersuchungen haben diese Wichtigkeit bestätigt, und wir haben in einem vorhergehenden Kapitel die Bedeutung für die Fettverdauung gezeigt. Nun

aber verändert die Zugabe irgendeines Natriumphosphates beträchtlich die Reaktion des Milieus, weil eine Phosphatlösung niemals neutral ist. (Das Monophosphat ist sauer; die Di- und Triphosphate sind alkalisch.)

Aus diesem Grunde haben wir die Untersuchungen über die Wirkung der Phosphate auf die Pankreaslipase aufgegeben.

2. Wirkung der Alkali- und Erdalkalichloride.

Natrium- und Kaliumsalze verhalten sich ähnlich.

Die Magnesium- und Bariumsalze beschleunigen, besonders in einer Konzentration, wo die Alkalisalze fast nicht wirken; aber die Hemmungserscheinungen treten dann auch für viel schwächere Konzentrationen auf. Die Kalksalze üben fast keine beschleunigende Wirkung aus.

Die Versuche sind im Schüttelapparat bei 16° gemacht worden. Die Bildung eines Niederschlages zwischen dem Saft und dem zugesetzten Salze zwangen hierzu. (Die Zahlen stellen Kubikzentimeter von verbrauchter $^n/_{10}$-NaOH dar.)

Versuch 1.
Einwirkungszeit $6^1/_4$ St.

Salzkonzentration	NaCl	KCl	$MgCl_2$	$BaCl_2$	$CaCl_2$
0	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
$^n/_{300}$	7,5	8,3	9,4	9,2	9,5
$^n/_{120}$	8,3	9,3	12,7	13,4	9,1
$^n/_{30}$	9,2	11,0	11,4	11,9	7,8
$^n/_{15}$	12,5	11,5	10,7	9,4	5,3

Versuch 2.
Einwirkungszeit 6 St.

0	11,2	11,2	11,2	11,2	11,2
$^n/_{600}$	11,0	12,6	11,4	12,7	—
$^n/_{120}$	13,5	13,3	15,1	14,7	13,3
$^n/_{30}$	15,7	13,6	14,2	12,5	9,2
$^n/_{15}$	15,4	15,3	9,8	11,3	5,3

Versuch 3.
Einwirkungszeit 6 St.

0	12,1	—	12,1	12,1	12,1
$^n/_{120}$	12,2	—	14,6	13,3	12,9
$^n/_{30}$	13,6	—	13,0	11,3	9,3
$^n/_{15}$	12,0	—	10,8	9,8	7,0

Versuch 4.

Einwirkungszeit 8 St.

Salzkonzentration	NaCl	KCl	$MgCl_2$	$BaCl_2$	$CaCl_2$
0	5,6	—	5,6	5,6	5,6
$^n/_{120}$	5,8	—	8,2	5,8	4,2
$^n/_{30}$	6,9	—	7,0	7,5	—
$^n/_{15}$	6,1	—	6,3	6,1	4,1

3. Wirkung der Schwermetallsalze.

Hoyer[1]) hat eine Beschleunigung der Spaltungsschnelligkeit der Fette durch Ricinussamen beobachtet, wenn diesem Samen Mangansulfat beigefügt wurde. In einer Abhandlung über die Beschleunigung des Pankreassaftes durch die Gallensalze sagt Magnus[2]), er habe eine Beschleunigung der Pankreaslipase durch Mangansulfat gefunden. In einer neueren Arbeit, die nach der Veröffentlichung unserer ersten Resultate erschien,[3]) studierte Harold C. Bradley[4]) die Kupfer-, Zinn- und Mangansalze und fand, daß ihre Wirkung sich mit der Konzentration änderte.

Wir sind in eine Nachprüfung gar nicht eingetreten, da sie stets ungenau ist. Die wässerige Lösung von Schwermetallsalzen hat immer eine stark saure Reaktion, es wäre unmöglich festzustellen, welcher Teil einer Veränderung der Reaktion des Milieus, und welcher Teil den Metallionen zukommt. Das Studium der Salze von Schwermetallen ist im ganzen ebenso unmöglich wie das der Natriumphosphate und Carbonate, und überhaupt der Körper, welche die Hydrolyse des Wassers verursachen, mit Vorstehen von H- oder OH-Ionen.

4. Über die Wirkungsweise der Elektrolyte.

Im ganzen genommen geht aus unseren Untersuchungen hervor, daß die Salze alle in derselben Weise wirken; sie üben einen doppelten Einfluß aus, der von den angewandten Konzen-

[1]) Hoyer, zit. nach Magnus.
[2]) Magnus, l. c.
[3]) Terroine, Compt. rend. Acad. d. Sc., 3. Mai 1909.
[4]) Harold C. Bradley, Am. Journ. of Biol. Chem. 6, 133.

trationen abhängt: sie beschleunigen oder sie hemmen. Die Allgemeinheit dieses Phänomens ließ uns dann jede Voraussetzung der spezifischen Wirkung einer Gruppe von Körpern auf die Pankreaslipase verwerfen. Wir glauben, daß diese Wirkung, die allen Salzen gemeinsam ist, nur eine banale physiko-chemische Wirkung sein könnte, und wir haben festzustellen versucht, von welcher Natur diese doppelte Wirkung — Hemmung, Beschleunigung — sein könnte.

Die erste Voraussetzung, die sich ergab, war folgende: eine kleine Menge von Salzen erleichtert die Emulsion, eine größere Menge schlägt sie nieder, was die hemmende oder beschleunigende Wirkung durch die Gleichartigkeitsverschiedenheit der dauernden Mischungen erklärte. Unglücklicherweise stieß diese Voraussetzung schon von Beginn an auf Schwierigkeiten. Die Kurven der Beschleunigung stimmen nicht mit denen, welche die Eigenschaft der Emulsion, d. h. ihre Beständigkeit darstellen, überein. Wenn man z. B. Jodid oder Fluorid benutzt, so findet man schon eine bedeutende Verminderung der Spaltungsschnelligkeit, während die Emulsion noch vortrefflich ist.

Versuche, die nachher gemacht wurden, zeigten, daß diese Voraussetzung nicht ausreicht, um alle Wirkungen zu erklären. Wenn man die Rolle der Salze während der Wirkung des Pankreassaftes allein oder zusammen mit Gallensalzen auf Ester oder Triglyceride, von denen einige im Wasser total löslich sind, beobachtet, bemerkt man dieselben Hemmungserscheinungen wie für das Öl; und die Salze gruppieren sich nach ihrer hemmenden Wirkung genau in derselben Ordnung (Chlorid, Bromid, Jodid, Fluorid).

Versuch 1.

NaCl-Wirkung. Einwirkungszeit 5 St. 50′.

NaCl-Konzentration	Methylacetat	Triacetin	Äthylbutyrat
0	8,1	9,8	9,1
$^n/_{120}$	7,9	9,2	8,2
$^n/_{30}$	7,7	9,1	7,0
$^n/_{15}$	7,4	9,4	5,7
$^n/_2$	6,2	8,2	4,1
3 n	5,7	3,7	1,4

Versuch 2.
Äthylbutyratspaltung. Einwirkungszeit 6 St.

Salzkonzentration	NaCl	NaBr	NaJ	NaF
0	4,3	4,3	4,3	4,3
$^n/_{350}$	3,7	3,9	2,9	1,5
$^n/_{70}$	3,7	3,4	2,9	0,7
$^n/_{23}$	3,7	3,6	—	0,2
$^n/_{8,75}$	3,5	3,0	—	
$^n/_{3,5}$	2,7	2,3	2,1	
$^4/_{3,5}$ n	2,2	2,3	1,5	
1,7 n	1,5	1,6	0,5	

Versuch 3.
Triacetinspaltung. Einwirkungszeit 6 St.

0	4,0	4,0	4,0	4,0
$^n/_{300}$	4,3	3,8	3,4	1,7
$^n/_{60}$	4,5	3,7	3,8	1,3
$^n/_{20}$	4,0	3,8	3,0	0,8
$^n/_{7,5}$	3,9	3,3	2,8	
$^n/_3$	3 9	2,8	1,7	
$^4/_3$ n	3,6	1,5	0,4	
2 n	3,0	1,5	0,1	
3 n	3,0	1,1	1 Tropfen	

In allen oben genannten Fällen kann die Hemmung keineswegs einer Wirkung auf die Emulsion zugeschrieben werden, aber wir finden hier die beschleunigende Phase nicht mehr.

Soll man daraus schließen, daß die Beschleunigung durch die Salze ein rein mechanisches Phänomen ist und die Hemmung im Gegenteil eine spezifische Wirkung auf das Enzym darstellt? Um diese Fragen zu beantworten, haben wir unsere Versuche mit Triolein wieder aufgenommen, aber diesesmal wurden die Gemische in einen Schüttelapparat gebracht, der sie während der ganzen Einwirkungszeit in einem vortrefflichen Emulsionszustande erhielt.

Folgende Resultate wurden erhalten. (Hier ist die Spaltung bedeutend, und unsere Resultate sind in $^n/_5$-NaOH ausgedrückt.)

Versuch 1, 2, 3.
NaCl allein. Einwirkungszeit 6 St. Temp. 16°.

NaCl-Konzentration	Vers. 1	Vers. 2	Vers. 3
0	22,9	15,6	12,7
$^n/_{300}$	29,3	—	—
$^n/_{120}$	—	19,9	13,9
$^n/_{30}$	26,8	22,2	17,2
$^n/_{15}$	25,6	24,3	21,1
$^n/_{7,5}$	21,6	—	—
$^n/_3$	16,2	24,6	25,7
3 n	13,0	13,4	13,5

Versuch 4.

Einwirkungszeit 6 St. Temp. 16°.

Salzkonzentration	NaCl	NaBr	NaJ	NaF
0	23,5	23,5	23,5	23,5
$^n/_{15}$	24,3	29,9	24,1	16,9
$^n/_{7,5}$	23,7	—	—	
$^n/_3$	21,9	21,3	21,7	
$^4/_3$ n	15,5	15,5	1,5	
2 n	13,9	10,9	1,1	
3 n	11,5	12,2	1,0	

Versuch 5.

Einwirkungszeit 6 St. Temp. 16°.

0	12,2	12,2	12.2	12,2
$^n/_{300}$	12,5	11,8	12.5	13,1
$^n/_{15}$	23,9	21.2	16,7	10,3
$^n/_{7,5}$	18,7	19.2		
2 n	13,8	9,5		

Versuch 6.

Einwirkungszeit 6 St. Temp. 16°.

0	12,5	12 5	12,5	12,5
$^n/_{120}$	13,9	12,5	13,4	12,7
$^n/_{30}$	15,0	15,7	15,1	11,6
$^n/_{15}$	14,6	15.5	14,0	9,4
$^n/_3$	15,0	13.9	14,0	
3 n	8,3	8,1	0,8	

Aus diesen letzten Versuchen geht klar hervor, daß erstens die hemmende Wirkung immer vorhanden ist, selbst im Falle eines vortrefflichen, homogenen Milieus, und zweitens, daß die Beschleunigung der Spaltungsschnelligkeit des Öles, obwohl viel geringer beim beständigen Schütteln, sich doch ausbreitet. Man muß noch hinzufügen, daß man genau dieselben Phänomene beobachtet, wenn man mit festen Fetten arbeitet, wie es folgender Versuch zeigt, den wir mit würfelförmigen, 1 g schweren Stückchen Hammelfett gemacht haben. Da in diesem Falle die Spaltung sehr schwach war, haben wir die Versuche 6 Tage lang fortgesetzt; die Versuche blieben völlig aseptisch.

NaCl-Konzentration	Acidität in $^n/_{20}$-NaOH	NaCl-Konzentration	Acidität in $^n/_{20}$-NaOH
0	3,2	$^n/_{15}$	4,8
$^n/_{120}$	3,0	$^n/_3$	8,4
$^n/_{30}$	3,1	3 n	1,5

Alle diese Tatsachen zeigen, daß die Rolle der Elektrolyten sich nicht allein durch eine Wirkung auf die Emulsion erklären läßt. Welches ist nun ihre Wirkungsweise? Verändern sie, durch eine Art Bindung an die zu spaltenden Körper, die Verteilung des Enzymes zwischen der Wasserphase und der Fettphase? Wirken sie auf die Löslichkeit oder auf die Diffusionsgeschwindigkeit der gebildeten Körper? Erstreckt sich ihre Wirkung direkt auf die Fermente?

Es ist gegenwärtig unmöglich, irgend eine dieser Fragen zu beantworten, und Experimente, die eine Aufklärung bringen könnten, sind ziemlich schwierig.

Im ganzen ist der Mechanismus der Wirkung der Salze auf die Lipasen noch ebenso dunkel wie bei allen anderen Enzymen. Jedoch ist die Allgemeinheit einer solchen Wirkung interessant. Es wäre festzustellen, ob es sich hier um einen allgemein physikalisch-chemischen Vorgang handelt, mit dem wir uns später zu beschäftigen gedenken.

V. Welchem Bestandteile verdankt die Galle die beschleunigende Wirkung, die sie auf die Spaltung der Fette durch Pankreassaft ausübt?

Die Spaltung der Fette durch Pankreassaft allein ist verhältnismäßig langsam. Wie man jetzt weiß, wird diese Spaltung durch Zusatz von Galle bedeutend beschleunigt.

Im Jahre 1891 wurde die bedeutsame Rolle der Galle durch die Versuche von Dastre[1]) über die Feststellung bei Tieren mit permanenter Gallenfistel erkannt. Dastre zeigte vor allem, daß man Tiere sehr lange am Leben erhalten kann, deren gesamte Galle durch eine nach seinen Angaben angelegte Fistel abfließt. Die Tiere mit Fistel erhielten dieselbe fette Nahrung wie die normalen Tiere, dann wurde in jedem Fall in den Faeces das Vorhandensein von neutralen Fetten, Fettsäuren und Seifen bestimmt. Diese Versuche führten zu folgender Auffassung über die Hauptverschiedenheit zwischen der Verdauung mit Galle und der ohne Galle: normaler Weise wurde eine bedeutende Quantität von Fettsäuren ausgeschieden, während bei Anwesenheit von Galle keine freien Fettsäuren auftraten.

[1]) Dastre, Arch. de Physiol., 5. Serie, 3, 186 u. 710, 1891.

Es scheint also, daß bei Anwesenheit von Galle die Verseifung der neutralen Fette verhindert ist. Es wurden im Kot nur neutrale Fette entleert.

Um dieselbe Zeit unternahm Rachford[1]) ein genaues Studium des Pankreassaftes, indem er den Saft einer temporären Fistel des Wirsungschen Kanals bei einem Kaninchen benutzte. Man kann, sagte er, mittels dieser Methode leicht 1 ccm Pankreassaft erhalten. Er untersuchte dann die Verseifungstätigkeit dieses Saftes und fand sie gering. Wenn man ein wenig Galle hinzufügte, war die Lipolyse bedeutend vergrößert, und Rachford sagt: „Aus meinen Versuchen ziehe ich den Schluß, daß Pankreassaft unter den günstigen Bedingungen im Duodenum sehr schnell wirkt. In einigen meiner Experimente, die bei Zimmertemperatur gemacht wurden, erzeugten Pankreassaftproben in Gegenwart von Galle aus neutralem Olivenöl $5^1/_2\,\%$ Fettsäuren in 2 Minuten."

Diese Tatsachen wurden durch Knauthe[2]) auch für den Hepatopankreas des Karpfen richtig gefunden; er beobachtete, daß die Lipolyse nach Zusatz von Galle viel rascher vor sich geht. Später machte Bruno[3]) ähnliche Beobachtungen am Pankreassaft des Rindes. Er fand den Pankreassaft permanenter Fisteln von Tieren, die mit Fleisch, Milch oder Brot genährt wurden, sehr wenig wirksam, ein Zusatz von Galle machte ihn außerordentlich aktiv. Bald darauf unternahm Glaeßner[4]) eine Untersuchung des Pankreassaftes von Menschen; und dieser Verfasser zeigte deutlich die Wirkung der Galle und auch des Intestinalsaftes auf die Pankreaslipase.

Also ist die Wirkung der Galle auf den Pankreassaft sehr deutlich erkannt worden; diese Wirkung findet sich wieder, wenn man die Mischung von Pankreassaft und Galle nicht nur auf Olivenöl und andere neutrale Fette wirken läßt, sondern auch auf die niedrig molekularen Ester, wie Loevenhart und Souder[5]) gezeigt haben.

---

[1]) Rachford, Journ. of Physiol. 17, 72, 1891.

[2]) Knauthe, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1898, 149.

[3]) Bruno, Archives des Sciences biologiques, St. Petersbourg, 1899, 114.

[4]) Glaeßner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 465.

[5]) Loevenhart und Souder, Am. Journ. of Biolog. Chem. 2, 415.

Es bleibt jedoch die Art dieser Wirkung noch zu studieren. Lange glaubte man, daß die Rolle der Galle darin bestehe, die Resorption der Fette zu erleichtern, indem diese emulsioniert werden; es läge also hier nur eine einfache physikalische Einwirkung vor. Aber dem ist nicht so; die Galle erleichtert auch die Spaltung. Ohne Zweifel vermittelt schon ihre Viscosität das rasche Homogenisieren der zu spaltenden Mischungen und vermehrt die Spaltungsschnelligkeit. Aber diese einfache Wirkung ist allen viscosen Lösungen eigen; hinzu kommt eine viel bedeutendere Wirkung, die isolierbaren Substanzen der Galle angehört, deren Lösungen die Verseifung sehr beschleunigen, ohne die Emulsion der Mischungen zu ändern.

Welches sind nun diese Substanzen? Ihr Studium ist erst vor kurzem begonnen worden.

Hewlett[1]) hatte nach Erkenntnis der Sensibilisation des Pankreassaftes durch Galle bei Olivenöl, Äthylbutyrat, Äthylacetat und Amylacetat gefunden, daß diese Sensibilisation der Gegenwart einer thermostabilen Substanz zuzuschreiben ist, die weder Cholesterin noch Gallenpigment, noch ein Kalksalz ist. Nach Hewlett handelt es sich um Lecithin. Dieselbe beschleunigende Wirkung wird auch durch Zusatz von Lecithin zu Pankreassaft hervorgerufen. In einem Versuche brachte der reine Pankreassaft, der während 24 Stunden auf Triacetin einwirkte, Säure entsprechend 4,3 ccm $^n/_{20}$ hervor. Dieselbe Mischung, der 2 ccm Galle beigefügt werden, bildet Säure = 19,5 ccm $^n/_{20}$. Dieselbe Mischung mit zwei Tropfen einer starken alkoholischen Lösung von Lecithin (Merck) bildet Säure = 19,9 ccm. Ein käufliches Präparat von Gallensalzen beschleunigte die Spaltungsschnelligkeit der Ester durch den Pankreassaft ebenso, aber es scheint, daß je reiner die Gallensalze, desto schwächer auch ihre Wirkung ist. Es ist daher möglich, ihre Wirkung einer Verunreinigung mit Lecithin zuzuschreiben.

Nach den widersprechenden Resultaten, die Otto von Fürth und Julius Schutz[2]) erhalten hatten, wurden Versuche derselben Art durch Küttner[3]) unternommen, und Küttner

---

[1]) Hewlett, John Hopkins Hospital Bull. 16, Nr. 166.

[2]) v. Fürth und Schutz, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 28.

[3]) Küttner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 472.

schließt daraus auf das Vorhandensein einer sehr deutlichen beschleunigenden Wirkung des Lecithins. Wenn man aber die von ihm angegebenen Zahlen näher betrachtet, sieht man, daß sie sehr wechselnd sind; ferner bezog sich das Studium der Lipase auf das Monobutyrin allein, nie auf die neutralen Fette. Dann standen auch diese Tatsachen in Widerspruch mit den Ergebnissen von Otto v. Fürth und Julius Schutz an Pankreasextrakten, die durch Loevenhart und Souder an Pankreassaft bestätigt waren.

Die bisherigen Resultate in dieser Frage sind also widersprechend, und die Versuche scheinen uns auch nicht einwandfrei zu sein. Zuerst benutzten die einen das Lecithin einfach in Wasser gelöst, während die anderen alkoholische oder Chloroformlösungen anwandten, dann nahmen einige anstatt der natürlichen Säfte, Handelspräparat wie das „Pankreatinum absolutum Rhenania"; endlich wurden die Messungen der Spaltungsgeschwindigkeit zumeist nach einer langen Einwirkungszeit vorgenommen (7 St. bei v. Fürth und Schutz; 21 St. bei Küttner; 24 St. bei Loevenhart und Souder, Hewlett).

Nun weiß man, daß die Beeinflussung zuerst eine Veränderung in der Spaltungsschnelligkeit bewirkt. Es ist also notwendig, Messungen nach ziemlich kurzen Zeiten vorzunehmen.

Wir haben diese Frage unter Vermeidung der erwähnten Fehlerquellen wieder aufgenommen.

Von selbst dargestelltem Lecithin[1]) wurden Wasseremulsionen bereitet, entweder durch Zerreiben im Mörser oder indem man tropfenweise eine Äther- oder Alkohollösung in heißes Wasser fallen läßt. Dann haben wir den Mischungen von Saft und Öl oder von Saft und Ester wechselnde Quantitäten von Lecithin in Alkohollösung, Chloroformlösung oder in Emulsion zugefügt. Man muß natürlich unbedingt der absoluten Neu-

[1]) Das gebrauchte Lecithin ist in folgender Weise bereitet worden. Die Eigelbe werden 24 St. bei Zimmertemperatur in Maceration mit 2 Vol. Aceton belassen. Nach dieser Zeit filtriert man und trocknet den Niederschlag im Vakuum. Wenn er trocken ist, wird er mit 95° Alkohol im Brutschrank bei 40° einige Tage lang digeriert. Die alkoholische Lösung wird dann verdunstet und der trockene Rückstand durch mehrere aufeinanderfolgende Präcipitationen mit Chloroform und Aceton gereinigt. Man erhält auf diese Weise ein weißes Produkt, welches beim Trocknen kaum ein wenig gelb wird und dessen Wasseremulsionen und Alkohollösungen meistens neutral sind.

tralität der gebrauchten emulsionierten Lösungen sicher sein, da eine sehr geringe Reaktionsveränderung des Pankreassaftes allein eine sehr große Beschleunigung der Spaltungsschnelligkeit hervorrufen kann.

Folgende Tabellen zeigen die Resultate einiger unserer Versuche; sie enthalten außerdem die Daten der Versuche mit Gallensalzzusätzen zum Vergleiche.

Versuch I.

Monobutyrinlösung 2% ccm	Pankreassaft ccm	Lecithinemulsion 2% ccm	Gallensalze 8% ccm	Wasser ccm	Nötige Menge von Kubikzentimetern $^n/_{20}$-NaOH zum Neutralisieren nach 1 St.	nach 3 St.	nach 22 St.
30	—	—	—	8	1 Tropf.	1 Tropf.	0,6
30	5 (gekocht)	—	—	3	0,1	0,1	—
30	5	—	—	3	1,9	2,6	4,5
30	5	1,5	—	1,5	1,4	2,0	4,2
30	5	2,0	—	1,0	1,4	2,0	4,5
30	5	—	1,0	2,0	4,0	4,7	4,6
30	5	1,5	1,0	0,5	4,2	4,5	4,5
30	5	2,0	1,0	—	4,1	4,6	4,6

Versuch II.

		Chloroformlösung		Chloroform			
30	5	—	—	2	0,3	0,5	0,8
30	5	—	1	2	1,1	1,7	3,0
30	5	0,5	1	1,5	0,9	1,4	2,3
30	5	1,0	1	1,0	0,9	1,4	2,3
30	5	1,5	1	0,5	0,8	1,3	2,3
30	5	2,0	1	—	0,9	1,4	2,3

Versuch III.

Ölemulsion		Lecithinemulsion			nach 2 St.	nach 6 St.	nach 23 St.
20	5 (gekocht)	—	—	10	0,0	0,0	0,0
20	5	—	—	10	1,7	1,7	2,0
20	5	1	—	9	1,1	1,0	1,0
20	5	5	—	5	1,2	2,5	2,6
20	5	—	1	9	0,8	1,4	1,9
20	5	—	2	8	2,0	2,4	5,6
20	5	—	5	5	3,2	6,5	10,5
20	5	—	10	—	6,9	13,1	23,9
20	5	5	5	—	3,8	4,7	

Sehr zahlreiche Versuche haben ähnliche Resultate gegeben. Wie man sieht, ruft Zusatz von Lecithin zu einer Mischung von Pankreassaft und Monobutyrin oder von Saft und Öl keine deutliche Aktivierung hervor, wenn die Lecithin-

konzentration des Gemisches sich in physiologischen Grenzen hält. (Die Lecithinkonzentration der Galle einer Fistel ist nach Hoppe-Seyler für den Hund 0,11 oder 0,12‰.) Wir haben diese Bedingungen in fast allen unseren Versuchen verwirklicht. Wenn man jedoch das Lecithin bei größerer Konzentration wirken läßt (diese Konzentration ist manchmal 30mal so groß als die Lecithinkonzentration in der Galle), so kann man eine schwache Spaltungsbeschleunigung des Öles beobachten, die auf keinen Fall mit der durch Gallensalze hevorgerufenen zu vergleichen ist.

Unsere Resultate[1]) stimmen also mit denen, die Hewlett, Küttner, Loevenhart und Souder erhalten haben, nicht überein, dagegen bestätigen sie diejenigen von Otto v. Fürth und J. Schutz.

VI. Wirkung der Gallensalze.

Wie wir im vorhergehenden Abschnitt gesehen haben, ist die Verstärkung des lipolytischen Vermögens des Pankreassaftes durch die Galle den Gallensalzen selbst zuzuschreiben. Die Wirkungsbedingungen dieser Salze und ihre Wirkungsweise sind bisher nur wenig studiert worden. Wir kennen über dieses Thema nur eine einzige systematische Arbeit, diejenige von Donath[2]); jedoch hat sie den Nachteil, daß sie mit Extrakten von Handelspräparaten gemacht wurde. Die Untersuchungen von Magnus und seinen Mitarbeitern beziehen sich fast nur auf die Leberlipase. Es lag also ein besonderes Interesse vor, diese verstärkende Wirkung der Gallensalze der pankreatischen Lipase gegenüber zu studieren.

Die von uns gebrauchten Gallensalze sind nach dem gewöhnlichen Verfahren aus Ochsengalle bereitet; es handelt sich stets um wässerige Lösungen einer Mischung von Glykocholat und Taurocholat.

1. Wirkung auf die verschiedenen Körper, die Pankreassaft hydrolysiert.

Die pankreatische Lipase ist nicht, wie aus zahlreichen Tatsachen hervorzugehen scheint, ein streng spezifisches Ferment;

[1]) Frl. L. Kalabonkoff u. Emile F. Terroine, Soc. de Biol. 63, 2, 372.

[2]) Donath, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 390.

sie ist genauer gesagt, ein Funktionsenzym. Sie ist in der Tat fähig, eine sehr große Anzahl Körper zu hydrolysieren, die ein oder mehrere Moleküle Säure auf eine oder mehrere alkoholische Gruppen enthalten, d. h. sie spaltet Glyceride und Ester von sehr verschiedenen Säuren [Morel und Terroine[1])]. Um welche Körper es sich auch handelt, die durch den Pankreassaft hervorgebrachte Hydrolyse ist stets vorhanden und wird manchmal durch Hinzufügen von Gallensalzen sehr bedeutend verstärkt. Jedoch hat diese meist sehr deutliche Verstärkung nicht immer denselben Wert. So ist der Pankreassaft allein dem Olivenöl gegenüber sehr aktiv, und in den günstigsten Fällen kann das Hinzufügen von Gallensalzen höchstens die Wirksamkeit vervierfachen; es ist ganz anders bei gewissen Estern oder Glyceriden von niedrig-molekularen Fettsäuren. In diesen Fällen ist die Wirkung des reinen Saftes fast Null; das Hinzufügen von Gallensalzen verstärkt bedeutend.

Jedoch müssen wir uns schon jetzt daran erinnern, daß, welcher auch der beobachtete Körper sei, wenn er durch die pankreatische Lipase hydrolysiert ist, diese Hydrolyse immer durch Hinzufügen von Gallensalzen bedeutend verstärkt wird.

2. Worin besteht die Verstärkung der lipolytischen Aktivität?

Wie stets bei Enzymwirkungen müssen zwei Fragen auseinandergehalten werden: Handelt es sich um Veränderungen in der Schnelligkeit der Hydrolyse oder um Veränderungen in dem Endzustand der Gemische? Geht die Hydrolyse weiter oder nicht?

A. Wirkung auf die Schnelligkeit der Reaktion.

Die Versuche, die sich auf den Einfluß von Gallensalzen auf die Schnelligkeit der Hydrolyse beziehen, sind mittels sehr verschiedener Körper angestellt worden, verschieden entweder in der chemischen Zusammensetzung oder in ihrem physikalischen Zustand. In allen Fällen waren selbstverständlich die Temperaturen konstant. Die folgenden Zahlen geben darüber Auskunft. (Die Zahlen beziehen sich auf das in Kubikzentimetern zur Neutralisation nötige Quantum $^{n}/_{20}$-NaOH.)

[1]) Morel und Terroine, Compt. rend. Acad. d. Sc., 19. Juli 1909.

Versuch 1.

Isobutylacetat. Temp. 40°.

	2 St.	4 St. 30′	7 St. 30′
Pankreassaft allein	0,2	0,8	1,5
„ + Gallensalze 2%	1,6	3,0	5,0

Versuch 2.

Methylbutyrat. Temp. 40°.

	1 St. 30′	4 St.	9 St.	22 St.
Pankreassaft allein	0,3	—	1,0	2,5
„ + Gallensalze 2%	3,9	5,9	9,0	12,0

Versuch 3.

Monobutyrin. Temp. 40°.

	1 St.	3 St.	22 St.
Pankreassaft allein	1,9	2,6	4,5
„ + Gallensalze 2%	4,0	4,7	4,6

Versuch 4.

Tributyrin. Temp. 40°.

	15′	40′	90′	240′
Pankreassaft allein	1,6	4,8	6,4	8,2
„ + Gallensalze 2%	4,0	6,2	9,7	13,3

Versuch 5.

Olivenöl. Temp. 40°.

	1 St. 15′	5 St. 45′	24 St.
Pankreassaft allein	5,0	7,0	11,6
„ + Gallensalze 5%	7,5	10,6	19,7

Versuch 6.

Olivenöl. Temp. 16°.

	1 St.	3 St. 40′	8 St.
Pankreassaft allein	6,9	11,8	16,3
„ + Gallensalze 5%	19,9	34,5	43,2

Diese Versuche zeigen in sehr deutlicher Weise, daß die Schnelligkeit der Hydrolyse durch Pankreassaft bedeutend durch Gallensalze beschleunigt wird. Man wird sich noch leichter davon überzeugen, wenn man die Kurve betrachtet, wo die Zeiten als Abscissen, die Spaltungswerte als Ordinaten gezeichnet sind.

B. Wirkung auf den Endzustand.

Die Gallensalze beschleunigen also bedeutend die lipolytische Reaktion, aber ist ihre Rolle damit beendet?

Das ist nicht der Fall, denn langdauernde Versuche zeigen, daß nach einer gewissen Zeit die zwei Wirkungskurven, die des

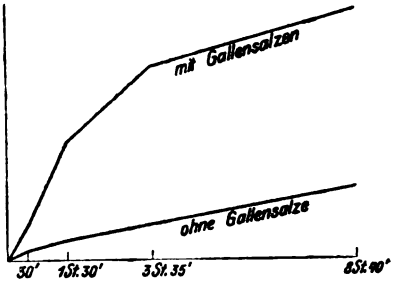


Fig. 2. Triacetinspaltung. Wirkung während der ersten Stunden.

reinen Saftes und die des aktivierten Saftes, parallel verlaufen, aber in sehr verschiedener Höhe, wie aus folgenden Resultaten und aus der entsprechenden Kurve hervorgeht.

Versuch 1.
Dosierung auf 10 ccm.

Wirkungszeit	Triacetin 2,18 g Saft 20 ccm Wasser 150 ccm	Triacetin 2,18 g Saft 20 ccm Gallensalze 5% 15 ccm Wasser 135 ccm
30′	0,2	1,3
1h 30′	0,3	2,4
3h 40′	0,6	4,6
6h 50′	0,9	4,6
22h	0,9	4,9
72h	1,8	5,1
192h	2,3	5,8
360h	3,1	6,2
552h	3,4	6,7
926h	4,8	8,4

Versuch 2.
Dosierung auf 10 ccm.

Wirkungszeit	Triacetin 2,18 g Saft 20 ccm Wasser 150 ccm	Triacetin 2,18 g Saft 20 ccm Gallensalze 5% 30 ccm Wasser 120 ccm
30′	0,2	0,8
1h 30′	0,5	3,0
3h 35′	0,9	4,9
8h 40′	1,8	6,3
25h 20′	2,8	6,2
48h	3,7	6,9
118h	4,4	7,0
360h	5,2	7,8
704h	6,5	9,3

Wir müssen also daraus schließen, daß die Gallensalze nicht nur die Reaktionsschnelligkeit beschleunigen, sondern auch das Gleichgewicht im Endzustande ändern.

III. Verändert sich die Wirkungsweise der Gallensalze mit den zu spaltenden Körpern?

Eine Tatsache fällt sofort beim Studium der beschleunigenden Wirkung der Gallensalze auf, die von Loevenhart aufgefunden ist: Erstens handelt es sich hier nicht um eine Wirkung ähnlich

der Wirkung einer Kinase auf Trypsin, die eine sehr geringe Quantität von Substanzen erfordert; im Gegenteil sind, um eine Beschleunigung hervorzubringen, immer ziemlich bedeutende Quantitäten von Gallensalzen notwendig. Zweitens: es existiert ein Höhepunkt der Konzentration, bei dem die Hydrolyse am stärksten ist. Stärkere Konzentrationen vermindern die Hydrolyse. Nach Loevenhart war dieser Höhepunkt sehr verschieden, je nachdem es sich um Ester handelte, wie Äthylbutyrat, oder um neutrale Fette, wie Olivenöl.

Diese Punkte, die Loevenhart nur berührt und Donath unvollständig mittels eines Handelspräparates studiert hat, verdienen eine Prüfung mit frischem Saft.

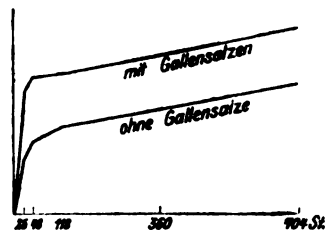


Fig. 3. Triacetinspaltung. Langwährende Einwirkung.

Es war leicht, das Vorhandensein eines Höhepunktes in der Konzentration der Gallensalze zu konstatieren, wenn es sich um die Spaltung von Estern und auch der Tryglyceride niedrig-molekularer Säuren handelt. Von den zahlreichen darüber gemachten Versuchen führen wir einige an.

Bei diesen Versuchen war das Quantum an Pankreassaft stets 5 ccm. Die Gesamtmenge ist immer gleich; es wechselt allein die Konzentration der Gallensalze. Die Zahlen geben die in Kubikzentimetern nötige Menge $^n/_{20}$-NaOH an, die zur Neutralisation nach 6stündiger Einwirkung im Brutschrank bei 40° nötig ist.

Gallensalzkonzentration	Methylacetat	Äthylbutyrat
0,033	3,3	19,3
0,066	18,5	25,2
0,165	32,5	27,3
0,33	45,7	26,2
0,66	42,4	25,1
1,65	32,3	22,7
3,3	28,2	22,0

Wir waren weniger glücklich, als wir versuchten, ein Optimum der Konzentration an Gallensalzen zu finden, wenn der zu spaltende Körper ein neutrales Fett, z. B. Öl ist. Wir

haben bei unseren Versuchen eine Konzentration an Gallensalzen von nahe 50% erreicht, ohne daß es uns möglich war, eine optimale Konzentration zu bestimmen. Zwar tritt, wie es aus folgenden Zahlen hervorgeht, eine regelmäßige Verstärkung der Hydrolyse ein, die der Steigerung der Konzentration der Gallensalze folgt; es gibt ein Moment, wo ein neues Hinzufügen von Gallensalzen nicht mehr die geringste Beschleunigung hervorruft. Diese Beobachtungen stimmen völlig mit denen von Donath überein.

Wirkung der Gallensalze auf die Hydrolyse des Olivenöls.

Gallensalzkonzentration %	Vers. 1	Vers. 2	Vers. 3	Vers. 4	Vers. 5	Vers. 6	Vers. 7	Vers. 8	Vers. 9	Vers. 10
0,031		1,2	1,3	2,3		2,5	2,4	4,0	5,2	8,8
0,062			1,3	2,3	11,4		3,7	4,9	6,5	
0,155			1,3	2,8	11,6					
0,310		1,5	1,5	3,4	14,7					
0,620		2,2	3,1	5,4	16,0	4,8	6,2	7,2	8,0	11,5
0,80	17,5									
1,55		8,7	6,7	8,6	17,0					
2,0	20,7									
3,1		12,1	12,2	12,0	18,3	4,2		8,2	10,9	13,3
4,0	24,9									
6,2			16,6	17,8	23,1					
6,6	28,0									
8,0										
12,4			20,0	21,8	26,3	9,2	7,7	10,5	15,3	17,9
24,8		21,2	20,3	25,6		12,4	9,7	13,0	19,0	21,5
49,6						12,8				

Die Resultate der zwei oben erwähnten Gruppen von Versuchen zeigen folgendes:

1. Es gibt unter den Bedingungen unserer Versuche ein Optimum der Konzentration an Gallensalzen, nahe bei 0,33% für die Spaltung der Ester und Triglyceride von niedrig-molekularen Säuren, wie Loevenhart schon erwähnt hat.

2. Es gibt kein Optimum in dem Fall der Hydrolyse von Triolein. Man beobachtet ein zuerst regelmäßiges Zunehmen, das nach und nach abnimmt und dann aufhört, was Donath schon gezeigt hat.

Diese Resultate scheinen zu zeigen, daß eine völlige Verschiedenheit zwischen den beiden Gruppen von Wirkungen

existiert. Da uns diese Verschiedenheit den Mechanismus der Wirkung der Gallensalze erklären konnte, war es von Wichtigkeit, zu wissen, ob sie auch wirklich existierte.

Im Laufe unserer Versuche hatten verschiedene Punkte unsere Aufmerksamkeit auf sich gezogen.

Zuerst schien uns die Trennung der Ester von den Triglyceriden unberechtigt. In der Tat verhalten sich alle Derivate einer Fettsäure, Triglyceride oder irgendwelche Alkoholester ganz ähnlich dem Pankreassaft und den Gallensalzen gegenüber, wenn diese in wechselnden Konzentrationen verwandt werden. Zahlreiche Versuche haben diese Tatsache sicher gestellt, und die Versuche, deren Resultate wir weiter angeben, zeigen das gleiche. (Die Körper sind in äquimolekularen Quantitäten verwendet.)

Versuch 1.

Gallensalzkonzentrationen %	Methylbutyrat	Propylbutyrat	Isobutylbutyrat	Amylbutyrat
0,009	7,0	4,3	2,9	1,3
0,018	9,2	4,6	3,5	2,4
0,045	11,7	5,9	6,2	4,7
0,09	17,6	7,2	6,4	6,1
0,225	22,1	7,2	8,4	7,5
0,45	14,9	6,0	8,0	6,3
0,90	7,8	—	5,8	4,9
2,25	7,1	5,9	6,4	4,9

Versuch 2.

Gallensalzkonzentrationen %	Triacetin	Methylacetat	Äthylacetat	Propylacetat	Isobutylacetat	Amylacetat
0,009	9,8	1,6	1,1	1,2	3,2	3,1
0,018	11,1	2,5	1,3	2,4	4,7	4,3
0,045	13,6	5,2	2,6	6,1	8,0	6,4
0,09	17,3	8,7	6,4	10,5	12,1	9,0
0,225	25,9	14,6	12,9	17,2	13,4	9,4
0,45	18,4	11,7	11,8	11,4	12,3	8,5
0,90	10,5	7,0	6,0	7,0	7,8	7,4
2,25	8,1	4,5	4,6	4,3	5,6	5,2

Wir können also den Schluß ziehen, daß die Natur der Alkoholgruppe nicht die Lage des Konzentrations-

optimums der Gallensalze beeinflußt; die Säure allein ist von Wichtigkeit. Die Natur der Säure bedingt also das Vorhandensein des Konzentrationsoptimums, das Loevenhart schon erwähnt hatte, und wenn dieses Optimum beim Olivenöl sich nicht geltend macht, so muß man die Ursache davon in der Wirkungsverschiedenheit der Fettsäuren suchen, die sich während der Spaltung bilden.

Die zweite Tatsache, die uns auffiel, war folgende: Während der vorhergenannten Versuche, die die Lage des Optimums betrafen, haben wir ziemlich starke Konzentrationen benutzt (2,5 %) und trotzdem nie eine völlige Hemmung der Enzymwirkung beobachtet. Wir machten neue Versuche mit stärkeren Konzentrationen und beobachteten dann das merkwürdige Phänomen: daß wir nicht nur keine Hemmung erreichten, sondern nach einer gewissen Verlangsamung eine neue Beschleunigung sehen konnten, die dieses Mal regelmäßig der Gallensalzkonzentration folgte, um bei einem gewissen Niveau stehen zu bleiben, genau wie in dem Falle von Olivenöl. Folgende Versuche illustrieren diese Erscheinung. (Die Zahlen beziehen sich auf das in Kubikzentimetern zur Neutralisation nötige Quantum $^n/_{20}$-NaOH nach einer 6stündigen Verdauung.)

Versuch 1.

Gallensalzkonzentration %	Propylacetat
0,033	5,5
0,066	12,0
0,165	14,1
0,266	11,5
0,33	7,9
0,66	6,4
1,66	6,9
3,33	10,0
6,66	14,1
13,3	17,8
26,6	23,6

Versuch 2 und 3.

Gallensalzkonzentration %	Amylacetat	Äthylbutyrat
0,016	0,9	4,2
0,040	—	5,1
0,083	2,0	8,1
0,166	2,0	—
0,255	2,4	7,3
0,66	2,5	6,7
0,83	2,7	6,6
1,66	1,9	6,2
2,50	2,6	6,1
3,33	2,8	6,2
6,66	4,0	8,3
13,3	6,2	9,6
26,6	9,2	12,4

Versuch 4, 5 und 6.

Gallensalzkonzentration %	Äthylbutyrat	Äthylbutyrat	Äthylbutyrat
0,006	5,2	7,0	8,4
0,016	7,1	8,8	9,1
0,033	7,1	11,4	9,6
0,066	5,6	12,3	9,9
0,165	5,0	9,7	—
0,33	4,3	8,8	10,3
0,66	3,3	6,7	9,6
1,65	4,7	7,1	9,5
3,3	6,6	8,5	8,5
12,2	8,4	10,4	10,8
16,6	9,4	12,3	12,4
24,4	10,2	12,9	13,1

Versuch 7 und 8.

Gallensalzkonzentration %	Triacetin	Äthylbutyrat
0,0	8,7	0,4
0,016	9,8	3,7
0,040	11,9	4,7
0,083	14,1	5,8
0,166	16,7	6,5
0,255	15,3	—
0,66	13,0	6,5
0,83	12,5	6,1
1,66	9,0	6,1
2,50	8,4	5,6
3,33	9,4	3,7
6,66	10,1	7,4
13,3	11,2	8,1
26,6	11,8	10,1

Also geht aus diesen Versuchen hervor, daß der beobachtete Höhepunkt im Falle der Spaltung von Estern und Glyceriden niederer molekularer Fettsäuren nur ein scheinbarer Höhepunkt ist; die Abwesenheit von Gallensalzen in stärkeren Konzentrationen täuscht ihn vor.

Endlich beobachtet man während der Versuche noch eine höchst interessante Tatsache; alle Mischungen mit Gallensalzen zeigen, wenn es sich um Derivate niedrig-molekularer Säuren handelt, ein Tyndall-Phänomen; Undurchsichtigkeit oder einen mehr oder weniger dichten Niederschlag. Wenn man vor der Titration die Reihe der Mischungen in irgendeiner der obigen Versuchsreihen beobachtet, so sieht man, daß die ersten Gläser eine Trübung zeigen, die immer stärker wird und die in den folgenden Gläsern sich in einen immer dichteren Niederschlag verwandelt. Dann vermindert sich dieser Niederschlag; er verschwindet, die Gläser werden wieder leicht trübe und endlich absolut klar. Dies kann nicht wundernehmen. Bekanntlich schlagen die Gallensalze in Gegenwart von ungenügend dissoziierten Säuren, wie Essigsäure und Buttersäure, Proteinsubstanzen nieder; das tritt auch in den Spaltungsgemischen ein. Der Pankreassaft wird durch die Gallensalze und die während der Spaltung

gebildeten Säuren gefällt. Gleich vielen kolloidalen Niederschlägen ist dieser im Überfluß löslich, und wenn die Konzentration der Gallensalze steigt, so gibt es keinen Niederschlag mehr.

Andererseits bilden die hochmolekularen, nicht dissoziierten Säuren unter denselben Bedingungen niemals einen Niederschlag.

Diese drei Beobachtungen führen also zu folgendem Schluß:

a) Das Verhalten der durch den Pankreassaft hydrolysierten Körper gegenüber steigenden Gallensalzkonzentrationen hängt allein von der Natur der Säure ab.

b) Der beobachtete Höhepunkt im Laufe der Spaltung der Derivate niedrig-molekularer Fettsäuren ist nicht wirklich vorhanden.

c) Die niedrig-molekularen Fettsäuren, die sich im Laufe der Spaltung bilden, bewirken im Pankreassaft in Gegenwart von Gallensalzen einen Niederschlag.

Jetzt sind wir imstande, die Wirkungsverschiedenheit der Gallensalze im Falle der Ester und in dem der Fette zu verstehen.

Diese Verschiedenheit ist nur scheinbar. Sie hängt allein von der Tatsache ab, daß höhere Fettsäuren keinen Niederschlag in der Fermentlösung bewirken und daß die Beschleunigung gleichen Schritt mit der Steigerung der Gallensalzkonzentration hält. Wenn sich aber eine niedrig-molekulare Säure bildet, so gibt es einen Zeitpunkt, von dem an das z. T. ausgefällte Enzym seine Wirkung wieder ausüben kann, wenn es wieder in einem Überfluß von Gallensalzen gelöst ist. Die Richtigkeit dieser Schlußfolgerung geht noch weiter aus Versuchen mit reinen Triglyceriden hervor. Die Zahlen geben die Werte der Spaltungen wieder. In den Kurven sind die Gallensalzkonzentrationen als Abszissen und die Beschleunigungswerte im Vergleich zu der Probe ohne Gallensalze als Ordinaten, dargestellt. Man sieht sehr deutlich, daß das Phänomen des Triacetinoptimums nur ein Absatz in der wahren Kurve ist, hervorgebracht durch eine Niederschlagsbildung.

Gallensalz-konzentration %	Triacetin	Tricaproin	Trilaurin	Tripalmitin
0	5,8	5,6	8,3	1,5
0,045	10,7	10,9	10,6	1,7
0,227	11,3	11,6	11,6	2,2
0,454	10,7	10,5	11,4	2,0
0,908	8,4	8,9	12,4	2,6
2,27	7,6	9,0	12,4	3,3
4,54	9,1	10,3	15,5	4,0
9,18	9,7	12,3	—	4,9
18,36	10,8	15,7	15,4	6,1

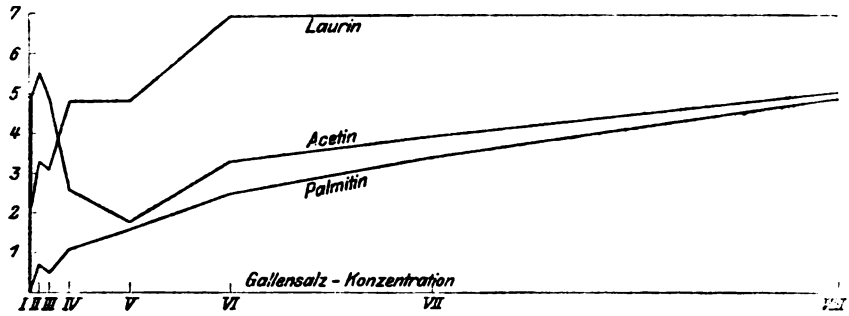


Fig. 4. Vergleichende Wirkung der Gallensalze auf die Spaltung verschiedener Tryglyceride.

Die Gallensalze verhalten sich ähnlich gegen alle Körper, die durch Pankreaslipase hydrolysiert werden. Nur eine einzige Verschiedenheit kann beobachtet werden. Die Gallensalze üben immer ihre Wirkung zuerst bei schwächerer Konzentration auf solche Substanzen aus, die die pankreatische Lipase allein sehr wenig spaltet, und dann erst auf Substanzen, die die Lipase besser spaltet.

Dieser Schluß scheint uns ziemlich wichtig. Die Tatsache, daß die Wirkung dieselbe bleibt, welcher auch der hydrolysierte Körper sei, scheint in der Tat zu beweisen, daß diese Körper sehr zahlreich sind und daß es sich hierbei nicht um eine physikalisch-chemische Wirkung auf die Hydrolyse oder ihre Spaltungsprodukte handelt, sondern viel eher um eine direkte Wirkung des Fermentes.

4. Welches ist die Wirkungsweise der Gallensalze?

Wir haben gesehen, unter welchen Bedingungen und in welcher Weise die Gallensalze wirken. Aber warum wirken sie? Welches ist die Wirkungsweise dieser Körper?

Die Resultate, zu denen uns die Versuche über das Optimum geführt haben, sprachen nicht gerade sehr für die Annahme, daß die Gallensalze die Löslichkeit oder wenigstens die Emulsionierbarkeit erleichtern. Im Laufe unserer Arbeit erschien eine Angabe von Harold C. Bradley[1]), daß sich die Beschleunigung teilweise durch eine emulsionierende Wirkung erklären lasse. Diese Annahme, die zunächst wahr erscheint, wenn man sich der merkwürdigen lösenden Wirkung der Galle auf Seifen, Fettsäuren, Lecithin erinnert, hat leider alle Tatsachen gegen sich. Denn:

1. Die beschleunigende Wirkung der Gallensalze zeigt sich am besten bei allen an sich schon löslichen Substanzen, wie Estern oder Triglyceriden. Besondere Zahlen sind nach den zahlreichen Beispielen in dieser Arbeit unnötig.

2. Die beschleunigende Wirkung tritt auch bei festen Fetten ein, wie aus den Versuchen mit Tripalmitin und Trilaurin hervorgeht.

3. Bei der Spaltung des Öles zeigt sich die beschleunigende Wirkung der Gallensalze, selbst wenn man durch starkes und dauerndes Schütteln die Mischungen während der ganzen Fermenteinwirkung in völliger Emulsion erhält.

Die Gallensalze wirken ähnlich in allen Fällen, wo die Löslichkeit und die Homogenität der zu spaltenden Mischungen gar nicht beeinflußt werden können; demnach braucht man nicht länger eine solche Voraussetzung aufrecht zu erhalten. Die Gallensalze wirken nicht durch eine Beeinflussung der Löslichkeit oder der Homogenität der zu spaltenden Mischungen.

Vielmehr muß man glauben, daß die Wirkung auf die Pankreaslipase selbst ausgeübt wird. Diese Voraussetzung war schon vorher durch Donath ausgesprochen worden mit der Behauptung, daß die Gallensalze das Proferment in Ferment umwandeln. Wir haben diese direkte Einwirkung zeigen können. Wenn man aseptisch bei 40° Pankreassaft im Brutschranke

[1]) Harold C. Bradley, l. c.

stehen läßt, so schwankt sein lipolytisches Vermögen während einiger Stunden praktisch nicht: wenn man ihn aber mit Gallensalzen vermengt, ist er im Laufe von einigen Stunden vernichtet. Dazu ist jedoch zu bemerken, daß, wenn die Dauer der Berührung des Saftes und der Salze kurz ist, das lypolytische Vermögen häufig vergrößert wird.

Unsere weiteren Versuche hierüber scheinen uns diese Tatsache genügend zu zeigen. Sie bestehen darin, daß man eine gewisse Anzahl Gläser in den Brutschrank stellt, die ähnliche Mischungen von Saft und Gallensalzen enthalten, und ihnen nach ungleichen Aufenthaltszeiten ein bestimmtes Volum Olivenöl hinzufügt. Die Zahlen, die die zur Neutralisation nötigen Quantitäten $^n/_{20}$-NaOH in Kubikzentimetern nach 6stündiger Einwirkung darstellen, geben also genau die Variationen der lipolytischen Kraft der Spaltungsgemische wieder.

Zeit des Verweilens im Brutschranke	Vers. 1 2 Saft + 2 Gallensalze 10% + 1 ccm Öl	Vers. 2 4 Saft + 4 Gallensalze 10% + 4 Öl	Vers. 3 2 Saft + 2 Gallensalze 10% + 2 Öl	Vers. 4 2 Saft + 2 Gallensalze 2,5% + 2 Öl	Vers. 5 2 Saft + 2 Gallensalze 2,5% + 2 Öl	Vers. 6 4 Saft + 4 Gallensalze 2,5% + 2 Öl	Vers. 7 4 Saft + 5 Gallensalze 10% + 5 Öl
0	19,8	102,7	36,0	21,2	26,0	29,2	81,5
30′	21,8	—	36,2	29,9	30,7	30,3	—
1h	20,6	57,8	26,8	17,9	27,0	33,0	80,0
2h	—	—	—	—	—	—	—
3h	18,0	—	7,0	3,0	10,0	23,5	47,0
4h	—	54,0	—	—	—	—	
5h	12,7	—	3,6	1,8	4,9	6,5	
24h	1,4	—	—	—	—	—	

Man sieht also, daß der Zusatz von Gallensalzen zu Pankreassaft in deutlichster Weise auf die Pankreaslipase wirkt; eine kürzere Berührung verstärkt ein wenig diese Wirkung, eine längere Berührung unterdrückt sie schnell.

Diese Tatsachen scheinen uns ein neues Argument zugunsten der Annahme, daß die beschleunigende Wirkung der Gallensalze einer direkten Wirkung auf das Ferment zuzuschreiben ist.

VII. Wirkung der Enterokinase.

Der Pankreassaft, den wir im Laufe von allen unseren Versuchen gebraucht haben, ist immer, wie wir es schon betont

haben, aseptisch aufgefangen worden. Er wurde aufbewahrt und immer nach mehr oder weniger langer Zeit wieder benutzt. Mehrmals beobachteten wir, daß das lipolytische Vermögen nach und nach abnahm, und systematische Versuche bestätigten dies deutlich, z. B. die folgenden Proben, die wir während 4 Stunden auf 10 ccm Öl wirken ließen:

	Zur Neutralisation nötiges Quantum $^n/_{10}$-NaOH in ccm
5 ccm frischer Saft + 10 ccm Olivenöl	21,0
5 ccm 100 Tage alter Saft + 10 ccm Olivenöl	2,1

Wenn man diese Tatsachen mit den früheren Beobachtungen von Hauriot, Boldireff usw. über das Verschwinden der Lipase in den Pankreasauszügen vergleicht, so liegt die Annahme nahe, daß die langsame Verminderung der Lipolyse den schwachen proteolytischen Eigenschaften des verwendeten Pankreassaftes zuzuschreiben war.

Es erhebt sich also folgende Frage: Was wird aus der Pankreaslipase, wenn der Saft durch Beifügen von Kinase proteolytisch aktiv gemacht wird? Um sie zu beantworten, wurde aktivierter Saft nach mehr oder weniger langem Verbleiben im Brutschrank bei 40° auf seine Wirkung auf Öl geprüft. In allen folgenden Versuchen war das gebrauchte Quantum Pankreassaft immer 5 ccm, das beigefügte Quantum Öl 10 ccm. Die Einwirkung dauerte 4 Stunden und ihr Ergebnis ist in Kubikzentimetern $^n/_{10}$-NaOH angegeben.

	Vers. 1	Vers. 2	Vers. 3	Vers. 4	Vers. 5	Vers. 6	Vers. 7
I. Leicht aktivierter Saft	8,2	6,9	26,6	12,6	8,7	7,1	55,6
II. Aktivierter Saft, der sofort gebraucht wurde			29,4	13,9	13,1	10,5	30,2
III. Aktivierter Saft nach 1 St. Aufenthalt im Brutschrank			5,1	8,3	7,4	6,8	22,2
IV. Aktivierter Saft nach 2 St. Aufenthalt im Brutschrank			2,1		6,4	4,3	8,2
V. Aktivierter Saft nach 3 St. Aufenthalt im Brutschrank			2,0				
VI. Aktivierter Saft nach 4 St Aufenthalt im Brutschrank	1,5	1,6	1,9				3,2
VII. Aktivierter Saft nach 5 St. Aufenthalt im Brutschrank			1,3				

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. Der aktivierte Saft spaltet das Öl ein wenig rascher als der Saft an sich.

2. Wenn man den aktivierten Saft im Thermostaten läßt, verliert er rasch sein lipolytisches Vermögen.

Hier ist nur ein physiologisch interessanter Punkt zu beachten. Im Darm ist der Pankreassaft proteolytisch aktiv; sollte man daraus schließen, daß sein lipolytisches Vermögen dadurch verschwinden sollte, und daß infolgedessen die Pankreaslipase ohne physiologische Bedeutung wäre?

Wir haben gedacht, daß die Vernichtung der Lipase durch Selbstverdauung des Pankreassaftes weniger rasch sei, wenn sich das proteolytische Vermögen auf ein fremdes Albumin erstreckt; verschiedene Versuche haben dies bestätigt.

Versuch 1.

		Zur Neutralisation nötige Menge $^n/_{10}$-NaOH in ccm
I. 5 ccm aktivierter Saft, sofort gebraucht	Zu allen Gläsern fügt man 10 ccm Öl und läßt 3 St. bei 40° digerieren	10,5
II. 5 ccm aktivierter Saft, die allein 6 St. im Brutschrank verblieben		4,4
III. 5 ccm aktivierter Saft + koaguliertes Eiweiß, die 6 St. im Brutschrank verblieben		9,2

Versuch 2.

I. 5 ccm aktivierter Saft, sofort gebraucht	Zu allen Gläsern fügt man 4 ccm Öl und läßt 3 St. bei 40° einwirken	20,5
II. 5 ccm aktivierter Saft, die allein 5 St. im Brutschrank verblieben		2,9
III. 5 ccm aktivierter Saft + koaguliertes Eiweiß, die 5 St. im Brutschrank verblieben		11,7

Versuch 3.

I. 4 ccm aktivierter Saft, sofort gebraucht	Zu allen Gläsern fügt man 4 ccm Öl und läßt 3 St. bei 40° digerieren	28,4
II. 4 ccm aktivierter Saft, die allein 5 St. im Brutschrank verblieben		3,0
III. 4 ccm aktivierter Saft + koaguliertes Eiweiß, die 5 St. im Brutschrank verblieben		24,1

Es geht also aus diesen Daten hervor, daß unter den Bedingungen, die den physiologischen Verhält-

nissen am nächsten stehen und wo der Saft sein proteolytisches Vermögen in fast normaler Weise ausübt, der Pankressaft seine lipolytischen Eigenschaften behält.[1])

Diese zwei Enzymwirkungen können also nebeneinander ohne gegenseitige Beeinträchtigung vor sich gehen.

Zusammenfassung.

I. Die Zwischenprodukte (Mono- und Diglyceride) der enzymatischen Spaltung der Triglyceride verändern nicht die Spaltungsschnelligkeit dieser Triglyceride; aber ihre Bildung hat dennoch einen Einfluß auf den Verlauf der Reaktion und ihre Grenze, weil sie der Hydrolyse durch den Pankreassaft einen immer stärkeren Widerstand entgegenstellen.

Die Endprodukte der Reaktion wirken nicht in stets ähnlicher Weise. Während die Seifen und die Fettsäuren die Spaltung der Fette verlangsamen, was mit unseren gesamten Kenntnissen über den Mechanismus der Fermentwirkungen übereinstimmt, beschleunigt das Glycerin diese Zerlegung.

Die beschleunigende Wirkung des Glycerins ist zum größten Teil seiner Viscosität zuzuschreiben, welche die Gleichartigkeit der digerierten Mischungen erleichtert und die Angriffsoberfläche der zu spaltenden Körper vergrößert.

II. Die Temperatur hat einen sehr deutlichen Einfluß auf die Wirkungsschnelligkeit der Lipase. Diese Wirkung ist fast Null bei 56°, optimal bei 40° und noch recht deutlich bei 0°. Diese Wirkungsverschiedenheiten sind ein wenig deutlicher im Falle der Spaltung von Triolein als im Falle der Spaltung der Ester oder Triglyceride von niedrig-molekularen Säuren. Wenn Pankreassaft 5 Minuten auf 60° erwärmt wird, verliert er sein lipolytisches Vermögen gänzlich. Wenn der Pankreassaft vorher durch Hinzufügen von Gallensalzen sensibilisiert wird, ist die Grenztemperatur für die Vernichtung der Lipase bedeutend herabgesetzt.

III. Die Pankreaslipase ist Schwankungen des Reaktionsmilieus gegenüber empfindlich. Sie wirkt in neutralem, schwach

[1]) Vgl. Soc. de Biol. 65 II, 329.

saurem und schwach alkalischem Medium. Die optimale Reaktion ist eine NaOH-Konzentration $= {}^{n}/_{150}$; sie ist in allen Fällen viel schwächer als die natürliche Alkalinität des Pankreassaftes.

IV. Der Einfluß von Elektrolyten auf die Pankreaslipase kann allein an solchen Verbindungen erkannt werden, welche die Reaktion des Milieus nicht ändern, daß heißt deren Lösungen neutral sind; die Salze der Schwermetalle, die Alkaliphosphate und Carbonate können also von diesem Standpunkte aus nicht studiert werden.

Alle Salze wirken in ähnlicher Weise, gewisse Konzentrationen beschleunigen, andere verlangsamen; die einzige Verschiedenheit besteht in der Lage der optimalen Konzentration.

In gewissen chemischen Reihen (Chlorid, Bromid, Jodid, Fluorid) beobachtet man eine regelmäßige Abnahme der optimalen Konzentration mit dem Molekulargewichte.

Der Einfluß der Elektrolyte kann nicht Wirkungen auf die Emulsion oder die Löslichkeit der zu hydrolysierenden Körper oder der Spaltprodukte zugeschrieben werden.

Vom physiologischen Standpunkt aus ist es interessant, daß die optimale NaCl-Konzentration ganz nahe derjenigen liegt, die sich im Darm durch Neutralisieren des Magensaftes einstellt.

V. Das lipolytische Vermögen des Pankreassaftes wird in keinem Falle durch Zusatz von Lecithin deutlich verstärkt; die beschleunigende Wirkung der Galle muß allein dem Vorhandensein der Gallensalze zugeschrieben werden.

VI. Zugabe von Gallensalzen verstärkt ganz allgemein bedeutend das Fettspaltungsvermögen des Pankreassaftes auf beliebige Substrate. Diese Verstärkung zeigt sich zugleich in einer bedeutenden Beschleunigung der Spaltungsschnelligkeit und in einer deutlichen Verschiebung des Gleichgewichtszustandes der Reaktion.

Die Wirkungsweise der Gallensalze ist stets dieselbe, welches auch der zu spaltende Körper sei; die Verschiedenheiten, die man zwischen niedrig- und hochmolekularen Fettsäuren findet, sind nur scheinbar, sie beruhen auf manchmal im Pankreassaft eintretenden Ausfällungen.

Die Gallensalze scheinen nicht durch Erhöhung der Löslichkeit der zu spaltenden Körper oder Reaktionsprodukte zu wirken; sie scheinen vielmehr eine direkte Wirkung auf das Ferment auszuüben.

VII. Wenn man durch Zugabe von Kinase Pankreassaft proteolytisch aktiv macht, beobachtet man eine rasche Abnahme des lipolytischen Vermögens. Die Verminderung ist fast Null, wenn der Pankreassaft auf koaguliertes Eiweiß einwirkt.

Kobragift und Hämolyse.

III. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem med.-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 18. Dezember 1909.)

Nachdem ich in meiner zweiten Mitteilung[1]) über Kobrahämolyse die Bedeutung der Salze und Säuren für dieselbe ausführlich auseinandergesetzt habe, werde ich in dieser Publikation die Rolle der Aktivatoren behandeln. Als Aktivatoren kommen bekanntlich hauptsächlich Ölsäure bzw. Ölseife und Handelslecithin in Betracht. Wir werden uns hier ausschließlich mit diesem „Lecithin" beschäftigen; die Besprechung der Ölseife wird einer folgenden Mitteilung vorbehalten.

In meiner ersten Mitteilung[2]) habe ich nachgewiesen, daß das rein dargestellte Lecithin ganz unwirksam ist. Weiter wurde gezeigt, daß das Handelslecithin nicht seinem Gehalt an Lecithin (das überhaupt hier nicht als native Verbindung vorkommt) die aktivierende Wirkung verdankt. Welche Verbindung dieses „Lecithins" den Aktivator darstellt, ist für die vorliegende Untersuchung vorläufig ganz gleichgültig. Die Fragestellung ist nur der Mechanismus der Aktivatorwirkung, und wir brauchen nur nach der ersten Mitteilung anzunehmen, daß jedenfalls ein „Kobralecithid" im Sinne Kyes' unmöglich existieren kann.

Die Untersuchung zerfällt in zwei Abteilungen. In dem ersten Kapitel wird über die Hämolyse des Rohrzuckerblutes durch Kobragift und (Agfa-) „Lecithin" berichtet; im zweiten Kapitel kommen die Verhältnisse bei Gegenwart von Salzen und Säuren zur Besprechung.

[1]) Diese Zeitschr. 18, 441, 1908.

[2]) Diese Zeitschr. 11, 521, 1909.

Betreffs der Methodik wird auf die zweite Mitteilung verwiesen, die hier größtenteils befolgt wurde. Die „Lecithin"lösung war eine 0,1%ige wässerig-methylalkoholische (10% Methylalkohol), später wurde eine 0,1%ige L.-Lösung in 8% Rohrzucker verwendet. Die Kobralösung war immer eine frisch bereitete Lösung in Wasser oder 8% Rohrzucker. Kobraglycerinlösung kam nicht zur Verwendung. Durch besondere Versuche wurde festgestellt, daß die Reihenfolge Blut, Gift, „Lecithin" und Salz gleichgültig war, indem man ohne Einfluß auf das Ergebnis die Reihenfolge beliebig ändern konnte. Es wurde immer Kalbsblut benutzt. Kontrollversuche wurden überall angestellt.

I.

In meiner zweiten Mitteilung habe ich bewiesen, daß Rohrzuckerblut von Kobragift allein hämolysiert wird. Die Empfindlichkeit des Blutes ist jedoch recht verschieden, da zum Teil das Blut Kohlensäure enthält, die bei etwas größerer Konzentration die Aufnahme des Giftes verhindert. Durch Behandlung mit Kaliumchromat läßt sich diese Hemmung beseitigen. Andererseits wird das Blut durch Stehen inaktiviert, indem die Salze herausdiffundieren. Durch Behandlung mit Alkali u. dgl. wird solches Blut bisweilen reaktiviert. Zuletzt kommt, obwohl selten, ein refraktäres Blut vor, das überhaupt nicht reaktiviert werden kann. Aus diesen und anderen Tatsachen ließ sich folgern, daß das Kobragift als eine Säure von dem Alkali der Lipoidmembran aufgenommen wird. Aus dieser reversiblen Verbindung geht das Gift auf einen zweiten Bestandteil über, was schließlich zur Hämolyse führt. Fehlt Alkali, wird das Gift überhaupt nicht aufgenommen; ist der zweite Bestandteil nicht vorhanden, kann die Hämolyse nicht stattfinden, selbst wenn das Gift durch das Alkali aufgenommen worden ist.

Wenn man eine eventuelle Aktivatorwirkung des L.s bei der Rohrzuckerbluthämolyse studieren will, müssen selbstverständlich diese Verhältnisse berücksichtigt werden. Es ist auch klar, daß man eine Giftmenge benutzen muß, die an und für sich zur Hämolyse unzureichend ist. In der folgenden Tabelle sind einige solche Versuche zusammengestellt. Die Giftlösung war eine wässerige 0,02%ige, das L. in 0,1% methylalkoholisch-wässeriger Lösung. Zum Vergleich wurden Versuche mit Kobragift allein (0,1% K. in Wasser) angestellt.

Tabelle I.

Blut Nr.	Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	Kobralösung %		
3	0	0	++	+++−	total	0,1	—	
3	+−	+++−	total	total	total	0,02	+ 0,1	ccm L
4	0	0	0	0	0	0,1	—	
4	0	0	−	−	++	0,02	+ 0,1	„ „
5	−	−	++	+++−	total	0,1	—	
5	0	0	0	0	+	0,02	+ 0,1	„ „
6	0	0	0	0	+++	0,1	—	
6	++−	++	+++	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
7	0	0	−	+++−	total	0,1	—	
7	−	+++	+++−	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
8	0	0	0	0	total	0,1	—	
8	+++	total	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
9	0	−	+−	+++−	total	0,1	—	
9	++	+++	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
10	0	−	++	+++−	total	0,1	—	
10	+	++	++	++−	+++	0,02	+ 0,1	„ „
11	0	0	0	0	+++−	0,1	—	
11	+	++	+++−	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
12	0	+	total	total	total	0,1	—	
12	−	+−	+++	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
13	0	−	total	total	total	0,1	—	
13	total	total	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
14	0	0	++−	+++−	total	0,1	—	
14	++	+++	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
15	0	0	++	+++	total	0,1	—	
15	+++	+++−	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
16	0	total	total	total	total	0,1	—	
16	0	+−	total	total	total	0,02	+ 0,05	„ „
17	0	0	0	0	0	0,1	—	
17	0	0	0	−	+	0,02	+ 0,1	„ „
18	0	0	0	0	0	0,1	—	
18	0	0	0	0	0	0,02	+ 0,05	„ „

Die Versuche zeigen ganz übereinstimmend, daß L. auch bei der Hämolyse des Rohrzuckerblutes einen Aktivator darstellt. Eine genauere Analyse der Versuche lehrt, daß die Aktivierung in bestimmter Proportion zur Empfindlichkeit des Rohrzuckerblutes gegenüber Kobragift allein steht, indem bei wenig empfindlichem Blut die Aktivierung auch recht gering ist und vice versa. Es zeigt sich weiter, daß man bei Gegenwart von L. durchschnittlich 9 bis 10 mal größere Wirkungen als durch Gift allein bekommt.

Bei einer solchen Übereinstimmung fragt es sich, inwieweit wenig bzw. unempfindliches Rz-Blut sich unter denselben Bedingungen gegenüber Kobragift + L. durch Chromat reaktivieren läßt wie gegenüber Gift allein.

Tabelle II.

Blut Nr.		Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	Kobralösung %		
4	Rzblut	0	0	0	0	0	0,1	—	
4	Rz-Chromat-Rzblut	—	—	—	+	+—	0,1	—	
4	Rzblut	0	0	—	+	++	0,02	+ 0,1	ccm L.
4	Rz-Chromat-Rzblut	0	Kuppe	Kuppe	—	+++	0,02	+ 0,1	„ „
5	Rzblut	—	—	++	+++—	total	0,1	—	
5	Rz-Chromat-Rzblut	+++—	total	total	total	total	0,1	—	
5	Rzblut	0	0	0	0	+	0,02	+ 0,1	„ „
5	Rz-Chromat-Rzblut	+	++	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
18	Rzblut	0	0	0	0	0	0,1	—	
18	Rz-Chromat-Rzblut	0	0	0	0	0	0,1	—	
18	Rzblut	0	0	—	+	+	0,02	+ 0,05	„ „
18	Rz-Chromat-Rzblut	0	0	—	—	+	0,02	+ 0,05	„ „

Aus der Tabelle geht hervor, daß eine Aktivierungswirkung des L.s nach Chromatbehandlung nur bei solchen Blutsorten stattfindet, die auch gegen das Gift allein empfindlich geworden sind. Die Ergebnisse stehen also in vollkommener Übereinstimmung mit den oben erwähnten.

Es fragt sich zuletzt, inwieweit man auch durch Stehenlassen eine Inaktivierung gegen Kobragift + L. erzielen kann, wie es gegen das Kobragift allein der Fall ist.

Tabelle III.

Blut Nr.		Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	Kobralösung %		
2a	Frisches Rzblut	0	0	—	+++	total	0,1	—	
b	„ „	+++	total	total	total	total	0,1	+ 0,1	ccm L.
c	Rzblut nach 48 St.	0	0	0	0	0	0,1	—	
d	„ „ 48 „	total	total	total	total	total	0,1	+ 0,1	„ „
21a	Frisches Rzblut	0	0	0	+++	total	0,1	—	
a	„ „	0	0	+++—	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
b	Rzblut nach 24 St.	—	—	+	+—	++	0,02	+ 0,05	„ „
b	„ „ 24 „	0	—	—	+	+—	0,02	+ 0,10	„ „
c	„ „ 48 „	0	0	0	0	0	0,1	—	
c	„ „ 48 „	0	0	0	—	—	0,02	+ 0,05	„ „
c	„ „ 48 „	0	0	—	—	+	0,02	+ 0,10	„ „
23a	Frisches Rzblut	0	0	0	total	total	0,1	—	
a	„ „	++	total	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
b	Rzblut nach 24 St.	0	++	total	total	total	0,02	+ 0,1	„ „
c	„ „ 48 „	0	0	0	0	0	0,1	—	
c	„ „ 48 „	0	0	0	0	0	0,02	+ 0,1	„ „

Es kann kein Zweifel darüber herrschen, daß auch die Empfindlichkeit gegenüber Kobragift + L. durch Stehen des Rzblutes verschwindet oder jedenfalls stark vermindert wird. Wenn Blut Nr. 2 ein hiervon abweichendes Ergebnis zeigt, ist dies kein Widerspruch, indem hier eine 0,1%ige Kobralösung benutzt wurde, während sonst überall eine 0,02%ige Lösung zur Verwendung kam.

Wir haben also gefunden, daß eine Giftquantität, die an und für sich zur Hämolyse unzureichend ist, durch die Gegenwart von L. hämolytisch wirkt, und weiter, daß sämtliche Verhältnisse, die auf die Hämolyse durch Kobragift allein einwirken, auch betreffs Kobragift mit L. ihre Gültigkeit besitzen. Diese Tatsachen führen uns zu der Vermutung, daß der Mechanismus der Hämolyse in beiden Fällen derselbe ist. Es bleibt aber völlig dunkel, wie die Aktivierung zustande kommt.

Zur Beantwortung dieser Frage war es notwendig, verschiedene Möglichkeiten zu berücksichtigen, die zu neuen Untersuchungen anregen könnten.

Es wäre denkbar, daß die Hämolyse eine Summation der Einzelwirkungen der beiden hämolytischen Agenzien (bekanntlich bewirkt L. allein bei etwas größerer Konzentration Hämolyse) darstellen konnte. Ferner war es möglich, daß das Gift bei Gegenwart von L. ausgiebiger als sonst aufgenommen wurde, entweder weil das zuerst aufgenommene L. das Gift selbst aufnimmt, das dann später auf andere Blutkörperchenbestandteile (die „Receptoren") überginge, oder weil das L. die Blutkörperchen derartig verändern könnte, daß das Gift in größerer Menge als sonst direkt aufgenommen würde. Drittens wäre denkbar, daß das Gift von dem in Lösung befindlichen L. adsorbiert würde (analog der Adsorption von Dextrose durch L.) und als solches aufgenommen würde. Daß sich eine feste stöchiometrische Verbindung zwischen Gift und L. bildet, ist ganz ausgeschlossen, wie in meiner ersten Mitteilung erwiesen ist.

Diesen Möglichkeiten läßt sich durch die Variation der Versuchsanordnung näher treten, indem man abwechselnd die Blutkörperchen zuerst mit dem einen Agens behandelt und nach einiger Zeit die überschüssige Lösung mit reiner Rohrzuckerlösung und dem zweiten Agens zusetzt.

Ich werde zuerst über solche Versuche berichten, in denen das L. (0,1 ccm) zugesetzt wurde. Nach einer gewissen Zeit, gewöhnlich 1 Stunde bei 37°, wurde die Lösung abzentrifugiert. Der Abguß wurde mit Kobragift und neuen Blutkörperchen und die beladenen Blutkörperchen (eventuell nach Auswaschen mit Rohrzuckerlösung) mit Rohrzuckerlösung und Kobragift versetzt.

Die Versuche zeigen alle ein übereinstimmendes Ergebnis. Da dies aber recht befremdend wirkt, erlaube ich mir fünf Versuchsserien anzuführen.

Tabelle IV.

Blut Nr.		0,02%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
9	Rzblut + 0,1 ccm L.	+	++	+++	total	total
	Rzblut + 0,1 ccm L., 1 Std. 37° zentrf.:					
	a) Bl + Rz	0	—	—	+	+—
	b) Abg. + neue Bl	0	0	—	+	+—
11	Rzblut + 0,1 ccm L.	+	++	+++—	total	total
	Rzblut + 0,1 ccm L., 1 Std. 37° zentrf.:					
	a) Bl + Rz	0	0	0	0	+++
	b) Abg. + neue Bl	0	0	—	+	+++—
12	Rzblut + 0,1 ccm L.	—	+—	+++	total	total
	Rzblut + 0,1 ccm L., 1 Std. 37° zentrf.:					
	a) Bl + Rz	0	0	—	+	++—
	b) Abg. + neue Bl	0	0	0	—	—
14	Rzblut + 0,1 ccm L.	++	+++	total	total	total
	Rzblut + 0,1 ccm L., 1 Std. 37° zentrf.:					
	a) Bl + Rz	0	0	0	+	++—
	b) Abg. + neue Bl	0	0	0	—	+
24	Chromat-Rzblut + 0,05 ccm L.	++	+++—	total	total	total
	Chromat-Rzblut + 0,1 ccm L., 1 Std. 37° zentrf.:					
	a) Bl + Rz	+	+	+	+	+++—
	b) Abg. + neue Bl.	+	+	+	+++—	total

Es wurden mehrere ähnliche Versuche angestellt.

Aus dem Vergleich zwischen der in Abguß befindlichen L.-Quantität mit der ursprünglichen Menge (Rzblut + Kobragift + L.) geht hervor, daß weniger als die Hälfte Menge L. in der Lösung geblieben ist. Besonders zeigt dies der Versuch Nr. 24, in dem 0,05 ccm L. etwa doppelt so stark aktivierend wirken als der Abguß von 0,10 ccm L. nach Digestion mit Blutkörperchen. Trotzdem also das L. reichlich aufgenommen worden ist, sind die damit beladenen Blutkörperchen weit weniger empfindlich gegen das Gift, als wenn das Kobragift mit dem L. zusammen hinzugesetzt wird.

Diese Tatsache spricht entschieden gegen die Möglichkeit, daß das zuerst aufgenommene L. auf irgendwelche Weise die Körperchen für die Giftaufnahme präpariert. Ebenfalls ist es wenig wahrscheinlich, daß Gift und Aktivator beide für sich Hämolyse liefern. Dagegen sprechen die Versuche entschieden für die Möglichkeit, daß Gift und Aktivator außerhalb der Erythrocyten miteinander in Verbindung treten. Demgemäß dürfte hauptsächlich (nicht aber ausschließlich) nur die in Lösung befindliche L.-Quantität von Bedeutung sein. Daß aber eine solche Schlußfolgerung gänzlich unzutreffend ist, lehren folgende Versuche: Bei Blut Nr. 11, 12 und 14 wurde zuerst 0,1 ccm L. hinzugesetzt, und nach 1stündigem Aufenthalt bei 37° kam die Kobralösung hinzu. In der Tabelle IV ist erwiesen, daß jetzt der größte Teil des L.s absorbiert worden ist, und nur ein geringer Teil im Abguß verbleibt. Wenn also dieser Teil ausschließlich oder hauptsächlich für die Aktivierungswirkung verantwortlich ist, dürfte man erwarten, daß eine verhältnismäßig geringfügige Hämolyse eintreten sollte, wie die Abgußversuche zeigen. Wie Tabelle V zeigt, war aber das entgegengesetzte der Fall.

Tabelle V.

Blut Nr.	0.02%ige Kobralösung in ccm				
	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
11 Rzblut + 0,1 L. 1 St. 37° + Kobra	0	—	++	+++	total
12 Rzblut + 0,1 L. 1 St. 37° + Kobra	+	total	total	total	total
14 Rzblut + 0,1 L. 1 St. 37° + Kobra	—	—	++—	total	total

Aus den Versuchen der Tabellen IV und V läßt sich die wichtige Folgerung ziehen, daß sowohl die in Lösung gebliebene wie die absorbierte L.-Quantität von Bedeutung ist. Das Kobragift reagiert sowohl außerhalb wie in den Blutkörperchen mit dem Aktivator. Andere Versuche, in denen L.-beladene Blutkörperchen mit Kobragift und kleinen Mengen L. behandelt wurden, stimmten hiermit völlig überein. Gehen wir jetzt zu der Frage über, wie sich das schon von den Blutkörperchen aufgenommene Kobragift dem Aktivator gegenüber verhält, so haben die Versuche ein ganz eindeutiges Ergebnis geliefert, und ich brauche nur einen Versuch anzuführen. Bei Blut Nr. 26 wurden zwei Serien mit verschiedenen Quantitäten 0,1%iger Giftlösung (0,02 bis 0,10 ccm) versetzt und nach Aufenthalt im Eisschrank während 1 Stunde zentrifigiert

und zweimal mit Rohrzuckerlösung ausgewaschen. In der einen Serie wurden 0,05 ccm L. hinzugefügt, und die Proben wie gewöhnlich behandelt. Das Blut war wenig empfindlich.

Tabelle VI.

Blut Nr.	0,1%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
26 Bl + Rz ohne L.	0	0	0	0	0
26 Bl + Rz + 0,05 L.	+++—	total	total	total	total

Also wird auch das von den Blutkörperchen aufgenommene Kobragift durch L. aktiviert.

Wenn man die Tatsachen zusammenstellt, daß das fixierte Gift von L. aktiviert wird, daß das aufgenommene L. allein nur verhältnismäßig wenig aktivierend wirkt, während es mit einer geringen Menge L. in Lösung zusammen starke Aktivierungswirkung zeigt, kann man mit Wahrscheinlichkeit folgern, daß die Aufgabe des in Lösung gebliebenen L.s darin besteht, daß es das gelöste Gift auf die Blutkörperchen überführen soll. Zwar wird auch das Kobragift ohne L. aufgenommen, aber in geringerer Quantität als mit L. zusammen. Eine solche Folgerung kann erklären, daß die L.-beladenen Blutkörperchen tatsächlich etwas, obwohl weniger als mit überschüssigem L. zusammen, vom Kobragift hämolysiert werden.

Trifft aber diese Voraussetzung zu, so wird man durch Titration der mit und ohne Gegenwart von L. aufgenommenen Giftquantität entsprechende Unterschiede finden müssen. Ebenfalls sind solche Versuche beweisend, wo die Hämolyse der giftbeladenen Körperchen durch L. nach Entfernung des überschüssigen Giftes mit der Hämolyse durch die ursprüngliche Giftquantität mit L. zusammen verglichen wird.

Tabelle VII.

Blut Nr.	0,02%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
24a Chromat-Rzblut + 0,1 ccm L.	++	+++—	total	total	total
24b Chromat-Rzblut + Kobral. nach 1 St. zentrf. Bl + Rz + 0,1 ccm L.	+	+	++	++—	+++
9a Rzblut + 0,1 ccm L.	+	++	+++	total	total
9b Rzblut + Kobral. nach 1 St. zentrf. Bl + Rz + 0,1 ccm L.	—	+	+—	++—	+++
19a Rzblut + 0,1 ccm L.	0	—	+	++—	+++—
19b Rzblut + Kobral. nach 1 St. zentrf. Bl + Rz + 0,075 ccm L.	0	0	0	—	+
19c Rzblut + Kobral. + 0,05 L. nach 1 St. zentrf. Bl + Rz + 0,05 L.	—	—	—	++—	++—

Bei Blut Nr. 19 wurde vorausgesetzt, daß etwa die Hälfte der ursprünglichen L.-Menge bei c aufgenommen wurde. Demgemäß wurde nur 0,05 ccm L. gegenüber 0,075 ccm bei b hinzugesetzt. Die Versuchsergebnisse zeigen ganz unzweideutig die Richtigkeit der entwickelten Auffassung. Übrigens sind solche Versuche recht schwer auszuführen, weil die Hämolyse durch Gift und Aktivator auch bei gewöhnlicher Temperatur im allgemeinen recht schnell verlaufen. Demgemäß sind viele mißlungen.

Die in Lösung befindliche L.-Quantität befördert also die Überführung des Giftes auf die Blutkörperchen. Dagegen hat das aufgenommene L. die eigentliche Aktivierungswirkung aufzuweisen. Da wir vorher gefunden haben, daß die Empfindlichkeit des Blutes gegen Gift allein mit der Empfindlichkeit gegen Gift und Aktivator korrespondiert, und weiter, daß schon aufgenommenes Gift aktiviert wird, ist die Möglichkeit naheliegend, daß die beiden Komponenten miteinander in Verbindung treten. Eher darf man wohl denken, daß beide an und für sich zur Hämolyse beitragen, obwohl auch gegen diese Auffassung verschiedenes sich anführen läßt. Jedenfalls habe ich diese Möglichkeit eingehend berücksichtigt, und zwar, wie ich gleich bemerke, mit negativem Erfolg. Da indessen die Ergebnisse für die folgenden Untersuchungen Bedeutung haben, sollen sie hier mitgeteilt werden.

Die hämolytische Wirkung könnte möglicherweise darin bestehen, daß die Lipoidmembran durch die Hämolytica *arrodiert* wurde, eine Wirkung also, die mit der Ätherhämolyse vergleichbar ist. Andrerseits ist denkbar, daß die Membran eine *vermehrte Durchlässigkeit* für Salze hierdurch bekommt. Da die Blutkörperchen schwer diffusible Salze enthalten und dazu einen starken Quellungsdruck besitzen, müssen sie in diesem Falle platzen, ganz analog der Hämolyse durch hypoisotonische Lösungen bzw. Wasser. Es fragt sich also, ob das Gift oder der Aktivator eine verminderte Resistenz bzw. einen Überdruck bewirkt, die zur Hämolyse führen können. Dies ist aber nicht der Fall. Im Gegenteil scheint es, als ob L.-Beladung tatsächlich eine etwas größere Resistenz gegen Verdünnung mit Wasser bewirkt. Die Versuchsanordnung war dieselbe wie in meiner früheren Abhandlung über die Permeabilität der Blutkörperchen.[1])

[1]) Diese Zeitschr. 16, 255, 1909.

Tabelle VIII.

Blut Nr.		%ige Verdünnung mit Wasser 30	40	50	60	70
9	Rzblut + 0,08 ccm 0,1% Kobral. 1St. 37°	0	0	0	0	0
9	Rzblut + 0,08 ccm H_2O	0	0	0	0	—
23	Rzblut + 0,1 L. (meth.-alk. L.)	0	0	0	++	+++—
	Rzblut + 0,1 Methylalk. (10%)	0	0	+	+++	total
	Rzblut + 0,1 L. (in Wasser)	0	0	0	0	+++
	Rzblut + 0,1 H_2O	0	0	0	++—	+++—
	Rzblut + 0,1 L. (in Rz-L.)	0	0	0	0	+

1 St. 18° zentrif.

Aus der Tabelle geht erstens hervor, daß das Kobragift keine verminderte Resistenz bzw. vermehrte Permeabilität der Blutkörperchen herbeiführt, obwohl es aufgenommen wird. Diese Tatsache wurde außerdem in anderen Versuchen bestätigt. Auch die Aufnahme des L.s hat eine solche Wirkung nicht. Tatsächlich kann man eher beobachten, daß die Blutkörperchen durch L.-Beladung eine etwas vermehrte Resistenz gegenüber der Verdünnung erhalten. Weiter aber geht hervor, daß der Methylalkohol, der wie üblich zur Darstellung der L.-Lösung benutzt worden ist, gar nicht indifferent ist, sondern eine verminderte Resistenz gegen Verdünnung bewirkt. Dies ist aber vorauszusehen, da Methylalkohol leicht permeabel ist und als wasserlöslich einen osmotischen Druck ausüben kann. Demgemäß müssen die methylalkoholbeladenen Blutkörperchen einen größeren Druck zeigen. Zwar konnte man denken, daß ja doch nur sehr wenig Methylalkohol hier vorkommt (die L.-Lösung enthält 10% Methylalkohol. Von dieser Lösung kommen 0,1 ccm auf 2 ccm 5% Blutkörperchenaufschwemmung). Eine Berechnung wird aber zeigen, daß hier etwa 10 mg Methylalkohol und 50 mg Blutkörperchen in der Mischung sich befinden. Da man nun ebenso bequem eine L.-Lösung ohne Alkohol darstellen kann, ist dies entschieden vorzuziehen.

Es fragt sich zuletzt, ob die Beladung von Kobragift sowohl als von L. eine Änderung der Resistenz herbeiführt. Diese Versuche sind etwas schwierig auszuführen, da, wie bemerkt, die Hämolyse hierbei rascher eintritt als mit Gift allein. In dem folgenden Versuch kam deswegen ein 24 St. altes Rzblut zur Verwendung, das zwar durch Gift + L., aber nur langsam und recht gering (H. nach 24 St. = ++—) hämolysiert wurde. Das Blut wurde nach 1stündiger Behandlung bei 18° mit Gift und

L. zentrifugiert und die Lösung mit entsprechend verdünnter 0,85%iger NaCl-Lösung ersetzt.

Tabelle IX.

Blut Nr.	%ige Verdünnung mit Wasser 40	50	60	70
29 Rzblut zentrf. Bl + NaCl-L.	0	0	0	+
29 Rzblut + 0,1 Kobral. + 0,05 L. 1 St. 18° zentrf. Bl + NaCl-L.	0	0	0	+

Die Resistenz war also unverändert geblieben. Hiermit ist demnach bewiesen, daß eine Beladung mit Gift und Aktivator (andere Versuche zeigten, daß nach 1 Stunde eine solche Beladung tatsächlich stattgefunden hatte; hierüber später) stattfinden kann, ohne daß dies notwendig zur Hämolyse zu führen braucht.

Einen tieferen Einblick in der Aktivatorwirkung hat das Studium derselben bei Gegenwart von Salzen gegeben. Hierüber wird in dem folgenden Kapitel berichtet.

II.

Aus zwei Gründen kann das Kochsalzblut nicht von Kobragift allein hämolysiert werden. Erstens wird die Kohlensäure durch Salzsäure ersetzt. Deswegen bleiben auch die Blutkörperchen nach Überführung mit Rohrzuckerlösung refraktär. Und zweitens verhindert das Salz auch bei CO_2-freien Blutkörperchen die Giftaufnahme. Ich habe auch nachgewiesen, daß einerseits die stärkere Salzsäure die schwache Kobrasäure aus ihrer Verbindung mit den Blutkörperchenbestandteilen austreibt, und daß auf der anderen Seite das Alkali des Salzes das Gift aufnehmen kann. Wenn nun trotzdem das L. eine Hämolyse des Kochsalzblutes durch Kobragift verursachen kann, ist es klar, daß erstens die Affinität des Giftes zum Alkali überwunden wird und zweitens hierdurch die schwache Kobrasäure die aufgenommene Salzsäure verdrängen kann und muß, wenn wir nämlich voraussetzen, daß der Mechanismus der Giftwirkung überall derselbe ist. Wenn einmal aufgenommen, dann wird wahrscheinlich das Gift genau wie beim Rohrzuckerblut in den Blutkörperchen von dem aufgenommenen L. wieder aktiviert.

Die erste Frage wird dann darin bestehen, zu untersuchen, inwieweit dieselbe L.-Quantität denselben Hämolysegrad des

Rohrzuckerblutes und des NaCl-Blutes durch Kobragift bewirken kann. Die folgende Tabelle kann hierüber unterrichten.

Tabelle X.

Blut Nr.	0,02%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
3 Rzblut + 0,1 ccm L.	+—	+++—	total	total	total
3 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	+	+—	++	++—	+++
4 Rzblut + 0,1 ccm L.	0	0	—	+	++
4 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	0	0	0	0	0
5 Rzblut + 0,1 ccm L.	0	0	0	0	+
5 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	0	—	—	—	+
6 Rzblut + 0,1 ccm L.	++—	++	+++	total	total
6 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	—	+	++	+++—	total
7 Rzblut + 0,1 ccm L.	—	+++	+++—	total	total
7 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	++—	+++	+++—	total	total
8 Rzblut + 0,1 ccm L.	+++	total	total	total	total
8 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	+++—	total	total	total	total
9 Rzblut + 0,1 ccm L.	++	+++	total	total	total
9 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	—	+	+—	++	++—
10 Rzblut + 0,1 ccm L.	+	++	++	++—	+++
10 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	—	+	+++—	total	total
11 Rzblut + 0,1 ccm L.	+	++	+++—	total	total
11 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	+—	++—	+++	+++—	total
12 Rzblut + 0.1 ccm L.	—	+—	+++	total	total
12 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	0	Kuppe	Kuppe	+	++—
13 Rzblut + 0,1 ccm L.	total	total	total	total	total
13 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	+++—	total	total	total	total
14 Rzblut + 0,1 ccm L.	++	+++	total	total	total
14 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	+	+++—	total	total	total
15 Rzblut + 0,1 ccm L.	+++	+++—	total	total	total
15 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	+	++	++—	+++	+++
16 Rzblut + 0,1 ccm L.	0	+—	total	total	total
16 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	0	0	Kuppe	—	—

Ein Blick auf die Tabelle zeigt, daß das NaCl-Blut meistens ebenso empfindlich wie das Rzblut gewesen ist. Doch nicht überall, indem z. B. Blut Nr. 16 als Rohrzuckerblut ausgiebig von Gift + L. hämolysiert wird, während es als NaCl-Blut sehr wenig empfindlich ist. Anderseits war einmal (Blut Nr. 10) das NaCl-Blut empfindlicher als das Rzblut. Daß Blut Nr. 16 nicht an sich unempfindlich war, zeigen besonders die Versuche mit Kobragift allein (0,04 ccm 0,1% Kobragift = total), und wenn

in vielen anderen Versuchen NaCl-Blut gleich empfindlich wie Rzblut war, darf man vermuten, daß weniger das Salz als die gegen die CO_2 eingetauschte Salzsäure für die Unempfindlichkeit verantwortlich ist. Die Richtigkeit dieser Auffassung wurde in mehreren Versuchen bewiesen. Das Ergebnis war sehr überzeugend, und es genügt, als typisches Beispiel Blut Nr. 5 anzuführen.

Tabelle XI.

Blut Nr.	0,02%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
1 Rzblut + 0,1 ccm L.	0	0	0	0	+
2 NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	0	—	—	—	+
3 Rz-NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	+	++	++	+++	+++—
4 NaCl-Rzblut + 0,1 ccm L.	0	0	0	0	—
5 Chromat-Rz-NaCl-Blut + 0,1 ccm L.	total	total	total	total	total
6 Chromat-Rz-NaCl-Blut + CO_2 + 0,1 ccm L.	0	0	0	0	0

Darüber kann kein Zweifel herrschen, daß hier die Salzsäurebeladung hemmt. Es geht auch ganz bestimmt aus den Versuchen 3 und 6 hervor, daß Kochsalz keine Hemmung oder richtiger eine weit geringere Hemmung bewirkt. Daß nämlich das Salz, d. h. das Kation, hier keine Wirkung besitzt, ist noch nicht bewiesen. Hierüber sollen uns die folgenden Versuche unterrichten.

Tabelle XII.

Blut Nr.	0,02%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
7 Rzblut + 0,1 ccm L.	—	+++	+++—	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm $2^n/_1$-Chromat	0	—	+++	+++—	+++—
Rzblut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_5$-$CaCl_2$	+++	+++—	+++—	+++—	+++—
9 Rzblut + 0,1 ccm L.	++	+++	total	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm $2^n/_1$-Chromat	0	0	+—	++	++—
11 Rzblut + 0,1 ccm L.	+	++	+++—	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm $2^n/_1$-Chromat	—	0	+—	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_4$-$CaCl_2$	0	0	0	0	0
12 Rzblut + 0,1 ccm L.	total	total	total	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + $^n/_1$-Chromat	total	total	total	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + $2^n/_1$-Chromat	++	+++	+++—	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + $^n/_{10}$-$CaCl_2$	total	total	total	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + $^n/_4$-$CaCl_2$	total	+++	total	total	total

Durch die Versuchsanordnung ist es also gelungen, eine schwache Salz- bzw. Kationwirkung zu entdecken, die gar nicht

mit der Säurewirkung verglichen werden kann. Diese Hemmung kommt aber durch eine andere Versuchsanordnung besser zum Vorschein, nämlich durch Verminderung der L.-Quantität.

Tabelle XIII.

Blut Nr.		Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	Kobralösung in %
20	1 Rzblut + 0,05 ccm L.	—	+++	total	total	total	0,02
	2 Rz-NaCl-Blut + 0,05 L.	0	Kuppe	Kuppe	Kuppe	Kuppe	0,02
	3 Rz-NaCl-Blut + 0,10 L.	+—	+++	total	total	total	0,02
	4 Rz-NaCl-Blut + 0,05 L.	0	+	++	++—	+++	0,1

Wir sehen also, daß man durch eine einfache Verdoppelung der L.-Quantität die Salzhemmung ganz eliminieren kann, während eine 5fache Vermehrung der Giftmenge nur ungefähr der Hälfte des ursprünglichen Effekts ohne Salz (0,04 ccm von 1 = 0,10 ccm von 4) entspricht. Es scheint also, als ob das Gift sich zwischen Salz und L. verteilt, und daß die Verteilung bei 0,05 ccm L. zugunsten des Salzes, bei 0,10 ccm zugunsten des L.s liegt. Exakte Angaben lassen diese wenigen Versuche nicht zu.

Wenn man also die Salzhemmung erkennen will, ist es notwendig, die L.-Quantität entsprechend zu vermindern. Anderseits muß das L. zur Aktivierung des Rzblutes ohne Salz genügen. Im folgenden sind einige solche Versuche angeführt, in denen NaCl, K_2CrO_4 und $CaCl_2$ als Hemmungskörper benutzt worden sind.

Tabelle XIV.

Blut Nr.	Lösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	
16 Rzblut+0,05ccmL.	0	+	total	total	total	0,02% Kobralösung
Rzblut + 0,1 ccm 0,02%ige Giftl. + 0,05 ccm L.	++	+	—	—	0	26% NaCl-Lösung
Rzblut + 0,1 ccm 0,02%ige Giftl. + 0,05 ccm L.	+	+	—	—	0	$^n/_1$-Chromatlösung
Rzblut + 0,1 ccm 0,02%ige Giftl. + 0,05 ccm L.	—	—	0	0	0	$^n/_{10}$-$CaCl_2$-Lösung
19 Rzblut+0,05ccmL.	0	—	+	++—	+++—	0,02% Kobralösung
Rzblut + 0,1 ccm 0,02%ige Giftl. + 0,05 ccm L.	—	—	0	0	0	26% NaCl-Lösung
Rzblut + 0,1 ccm 0,02%ige Giftl. + 0,05 ccm L.	—	0	0	0	0	$^n/_1$-Chromatlösung
Rzblut + 0,1 ccm 0,02%ige Giftl. + 0,05 ccm L.	+	0	0	0	0	$^n/_{10}$-$CaCl_2$-Lösung

Bei dieser Versuchsanordnung kommt also die Hemmungswirkung der Salze zum Vorschein, und es ist weiter interessant, konstatieren zu können, daß die Wirkung der verschiedenen Salze ziemlich genau bei Kobragift + L. in derselben Proportion steht, wie sie früher für Kobragift allein gefunden worden ist. Diese Versuche stellen also weitere Beweise für die obige Auffassung dar, daß das Gift Affinität zum Salz und zum L. besitzt und daß die gegebene Hemmung der Verteilung des Giftes zwischen beiden entspricht. Die Affinität des Giftes zum L. ist übrigens schon bei der Untersuchung des Rzblutes festgestellt worden und die Affinität zu Salzen bzw. Kationen in meiner zweiten Mitteilung exakt bewiesen.

Die eingehende Analyse dieser Verhältnisse haben nun Ergebnisse geliefert, die anscheinend gegen eine solche Auffassung sprechen. Und tatsächlich sind auch die Verhältnisse sehr kompliziert. Erst die gründliche Bearbeitung des Stoffes hat die Widersprüche klären und zugleich die Erklärung der Aktivierungswirkung des L.s überhaupt sowohl für das NaCl-Blut wie das Rzblut geben können.

Es ist bisher, und zwar aus guten Gründen, vorausgesetzt worden, daß die Salzhemmung wie beim Kobragift allein gegen das Gift und nicht gegen den Aktivator gerichtet ist. Trotzdem habe ich es nicht versäumt, zu untersuchen, inwieweit vielleicht auch eine Wirkung auf den Aktivator vorkommt. Dies ließ sich durch vergleichende Untersuchungen der L.-Beladung durch L. allein und L. mit Salzen ermitteln.

Tabelle XV.

Blut Nr.	0,02%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
27 Rzblut + 0,1 ccm L. 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz	0	0	+	+	+++—
Rzblut + 0,1 ccm L. 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz + 0,05 ccm L.	+	++	total	total	total
Rzblut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz	0	0	0	+	+—
Rzblut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz. + 0,05 ccm L. . . .	+++—	total	total	total	total

Diese Versuche — und andere stimmten hiermit überein — zeigen, daß $CaCl_2$ nicht die L.-Aufnahme verhindern kann. Im Gegenteil scheint es, als ob das Calcium unter gewissen Um-

ständen eine die Hämolyse befördernde Wirkung zeigt. Dasselbe wird auch in anderen Versuchen konstatiert. Es wäre hier denkbar, daß etwas Ca mit dem L. aufgenommen wurde, und daß dies Ca vielleicht einen Receptor des Giftes darstellen konnte. Dementsprechend konnte man vermuten, daß eben die ganze Aktivatorwirkung des L.s vielleicht von einem präformierten Vorkommen von Basen abhängig wäre. In der Tat haben auch für native Phosphatide mehrere Forscher, wie Thudichum, Thierfelder und Stern, Fränkel u. a., das Vorkommen von Ca und anderen Basen sicher gestellt. Und was das Handelslecithin betrifft, so ist besonders die Verunreinigung mit NH_3 von Winterstein u. a. nachgewiesen. Anderseits habe ich in meiner zweiten Mitteilung über Kobragift nachgewiesen, daß man durch Digestion der durch Stehen inaktivierten Blutkörperchen mit Salzlösungen und Ammoniak unter Umständen eine Reaktivierung erzielen kann.

Zur Erledigung dieser Frage habe ich eine wässerige 0,2%ige L.-Lösung mit schwacher Salzsäure ausgeflockt, den Niederschlag nach dem Auswaschen in Methylalkohol gelöst und durch Verdünnung mit Wasser bis 10% Methylalkohol eine 0,1%ige L.-Lösung dargestellt. Diese Lösung zeigte aber eine mit dem gewöhnlichen L. übereinstimmende Aktivierungswirkung. Also sind die im L. befindlichen Basen jedenfalls nicht für seine Aktivierungswirkung verantwortlich. Ebenfalls verhindern Chromat und Kochsalz die Aufnahme des L.s nicht.

Wenn wir also gefunden haben, daß erstens die Salze und mäßige Mengen L. die Hämolyse durch Kobragift verhindern, und zweitens, daß L. ebensogut bei Gegenwart von Salz als ohne dasselbe aufgenommen wird, darf man voraussetzen, daß das Gift bei Gegenwart von Salzen nicht aufgenommen wird, wie es auch oben entwickelt worden ist.

Bei der Ausführung der entsprechenden Versuche zeigte sich aber ein ebenso frappantes wie unerwartetes Ergebnis. Besonders bei den Versuchen mit Kochsalzblut und Rzblut die mit 0,1 ccm 26%iger NaCl-Lösung versetzt waren. Die Versuche wurden derartig angestellt, daß das Blut mit Gift und Aktivator und Salz 1 Stunde bei Zimmertemperatur digeriert wurde. Nach dem Abzentrifugieren der Lösung wurde diese durch Rohrzuckerlösung ersetzt. Bei allen empfindlichen Blutsorten trat dann

augenblicklich Hämolyse ein. Und da die Kontrollen nicht hämolysiert wurden, war es klar, daß trotz Gegenwart von Kochsalz Kobragift aufgenommen worden war.

Dasselbe Ergebnis zeigten die Chromat- und Kalkversuche, doch mit der Ausnahme, daß eine Hämolyse nicht nach Überführung in reine Zuckerlösung eintrat. Hier aber konnte man durch nachträglichen Zusatz von L. die Giftaufnahme nachweisen, wie z. B. folgende Versuche zeigen:

Tabelle XVI.

Blut Nr.	Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
24 Rzblut + 0,1 ccm L. 1 St. bei 18° zentrf. Bl. + Rz	0	0	+	+	+++—
Rzblut + 0,1 ccm L. 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz + 0,05 L. . .	+	++	total	total	total
Rzblut + 0,02 bis 0,1 ccm 0,02% Giftl. + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz	0	0	0	+	+
Rzblut + 0,02 bis 0,1 ccm 0,02% Giftl. + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz + 0,05 ccm L.	+++—	total	total	total	total
Rzblut + 0,02 bis 0,1 ccm 0,02% Giftl. + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_1$-Chromat 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz	0	0	0	0	0
Rzblut + 0,02 bis 0,1 ccm 0,02% Giftl. + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm $^n/_1$-Chromat 1 St. bei 18° zentrf. Bl + Rz + 0,05 ccm L.	0	0	total	total	total

Stets wurden mehrere Versuche angestellt. Sie stimmten sämtlich mit den angeführten überein.

Es kann also kein Zweifel darüber existieren, daß das Gift bei Gegenwart von Salz und L. auch dann aufgenommen wird, wenn keine Hämolyse eintritt. Diese Tatsache steht also in schroffem Widerspruch zu den Verhältnissen beim Gift allein ohne Aktivator. Wie in der zweiten Mitteilung gezeigt, verhindern die Salze die Aufnahme des Giftes. Die Hemmungswirkung der Salze dürfte demgemäß hier eine andere sein.

Diese Befunde geben zu verschiedenen Überlegungen Veranlassung. Erstens fordern sie zu Kontrolluntersuchungen mit

Gift allein auf, trotzdem die seinerseits gelieferten Belege mit Gift allein und Salzen ziemlich entscheidend sein dürften.

Tabelle XVII.

Blut Nr.		Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
27	Rzblut + 0,02—0,1 ccm 0,1% GiftL., 1 Std. 0° zentrf., 2 mal Bl + Rz + 0,05 ccm L. . . .	+	total	total	total	total
		Kobralösung in ccm 0,04	0,08	0,12	0,16	0,20
27	Rzblut + 0,04—0,2 ccm Giftl., 1 Std. 0° zentrf., Rz + 0,1 ccm $CaCl_2$ zentrf. Rs + 0.05 ccm L.	0	0	0	0	0

Durch das $CaCl_2$ wird also den Blutkörperchen alles Kobragift entzogen.

Zweitens wenn nun einmal tatsächlich diese Unterschiede vorliegen, wäre es denkbar, daß die Salze mit dem Aktivator in irgendwelcher Weise reagieren. Man konnte sich z. B. vorstellen, daß die Salze dank dem Aktivator in der Lipoidmembran aufgenommen würden und hier mit dem Gifte reagierten. Beim Zusatz von L. zu solchen Blutkörperchen könnte das Gift aus seiner Verbindung mit dem aufgenommenen Salze bzw. Kation frei und aktiv werden. Diese Hypothese erklärt nun allerdings nicht, warum das Kochsalzblut nach Beladung mit Gift + L. und Überführung in Rohrzuckerlösung augenblicklich platzt. Und es ließ sich ferner zeigen, daß Kochsalzblut nach L.-Beladung und Entfernung des überschüssigen L.s durch einen folgenden Zusatz von Kobragift nicht hämolysiert wurde.

Hält man aber fest, daß das verschiedene Verhalten der Salze bei Gegenwart von L. und ohne ein reaktionelles Verhältnis zwischen beiden anzeigen muß, wird es notwendig, erst das gegenseitige Verhalten dieser beiden genau kennen zu lernen.

Wir haben schon gesehen, daß das L. bei Gegenwart von Salzen aufgenommen wird. Es fragt sich nun, ob die L.-Beladung hier eine Veränderung der Blutkörperchen herbeiführt. Wir haben ja schon früher gesehen (Tabelle VIII), daß das Rzblut durch L.-Beladung nicht verändert wird. In der folgenden Tabelle wird das Verhalten des NaCl-Blutes gegen Verdünnung mit Wasser demonstriert.

Tabelle XVIII.

Blut Nr. 23		Verdünnung mit Wasser in % 20	30	40	50
1 Std. bei 18° zentr.	NaCl + Blut + 0,1 ccm L. (in Methylalk.-L.)	0	+++ –	total	total
	NaCl + Blut + 0,1 ccm 10% Methylalk.-L.	0	0	+++	total
	NaCl + Blut + 0,1 ccm L. (in H_2O) . . .	–	+++	total	total
	NaCl + Blut + 0,1 ccm H_2O	0	0	+–	total
	NaCl + Blut + 0,1 ccm L. (in Rzblut) . .	0	+	total	total[1])

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß die Behandlung des NaCl-Blutes mit L. auch ohne Methylalkohol eine verminderte Resistenz gegen Verdünnung herbeiführt. In dieser Beziehung besteht also ein ganz bestimmter Unterschied zwischen NaCl- und Rzblut, indem letzteres gar nicht vom L. allein verändert wird. Es verdient, bemerkt zu werden, daß die Versuche über Rz- und NaCl-Blut mit demselben Blut Nr. 23 angestellt worden sind.

Indessen zeigen doch die Versuche, daß der Methylalkohol an sich die Resistenz etwas verändert, und es ist also fraglich, ob der Methylalkohol zu der Hämolyse durch Kobragift und L. beiträgt oder nicht. In der Tat zeigten Versuche, bei denen teils eine methylalkoholisch-wässerige L.-Lösung und teils L. in 8%iger Rohrzuckerlösung verwendet wurden, nachweisbare Unterschiede.

Tabelle XIX.

Blut Nr. 23	0,02%ige Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	
NaCl-Blut + 0,1 ccm L. (in Methylalk. H_2O) .	0	–	+–	total	total	wässerige Kobral.
NaCl-Blut + 0,1 ccm L. (in Rz)	0	0	+–	+–	total	Gift in Rz-Lösung

Dagegen kann kein Zweifel darüber sein, daß das L. an sich einen Aktivator des NaCl-Blutes darstellt, ebenso wie es, wie bemerkt, die Resistenz vermindert.

Es fragt sich dann zunächst, wie diese Resistenzänderung zu deuten ist. Wenn NaCl-Blut dank CO_2 eine HCl-Beladung besitzt, und da wie bekannt das L. auch einen Aktivator anderer Säuren, wie Kieselsäure (Landsteiner), Borsäure,

[1]) Die Verdünnungsversuche wurden derartig angestellt, daß nach dem Zentrifugieren eine bestimmte Menge NaCl- (oder Rz-) Lösung abpipettiert und durch dieselbe Menge Wasser ersetzt wurde. Es wurde umgeschüttelt und nach dem Zentrifugieren der Hämolysegrad abgelesen.

Salzsäure u. a. (Arrhenius), darstellt, liegt es sehr nahe, hier diese Möglichkeit anzunehmen. Ferner wäre denkbar, daß das L. die Lipoidmembran schädigte. Eine derartig veränderte Lipoidmembran dürfte einer verminderten Resistenz bei der Verdünnung entsprechen. Keine von diesen Möglichkeiten ist aber zutreffend. Wenn man nämlich das Blut zuerst mit Chromat (oder weniger gut mit Rz-Lösung) behandelt, wird alle CO_2 den Blutkörperchen entzogen, und nach Überführung in NaCl-Lösung kann folglich jetzt keine Salzsäurebehandlung stattfinden. Trotzdem wird solches Chromat-NaCl-Blut von L. in Rz-Lösung ohne Methylalkohol verändert. Diese verminderte Resistenz läßt sich weiter durch eine neue Chromatbehandlung (oder Rz-Behandlung) aufheben (Chromat = 2 ccm Rz-Lösung + 0,1 ccm $^n/_1$-Chromat).

Tabelle XX.

Blut Nr. 27	Verdünnung mit Wasser in % 20	30	40	50	60
1 Chromat-NaCl-Blut + 0,15 ccm Rz		0	0	+	total
2 Chromat-NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Rz	0	0	+++−	total	tota
3 wie 2 zentrf. Chromat zentrf. NaCl	0	0	0	++	tota
4 NaCl-CO_2 + 0,15 ccm Rs.	0	+	total	total	tota
5 NaCl-CO_2 + 0,05 ccm L. + 0,10 ccm Rz	0	++	total	total	tota
6 wie 5 zentrf. Chromat zentr. NaCl	0	0	0	++−	tota

Aus diesen Versuchen geht also ganz überzeugend hervor, daß auch ohne Gegenwart von freier HCl eine Verminderung der Resistenz eintritt und weiter, daß diese durch Chromat-Rz-Behandlung wieder aufgehoben wird. Hiermit ist also erwiesen, daß die Änderung jedenfalls keine Arrosion der Lipoidmembran durch das L. verursacht, was übrigens auch die Rz-Blutversuche mit L. bestimmt anzeigen.

Diese Versuche wurden mehrmals und immer mit demselben Ergebnis wiederholt. In anderen Versuchen wurde Rzblut, das also an sich nicht durch L. verändert wird, mit 0,1 ccm 26%iger NaCl-Lösung versetzt mit dem Erfolge, daß eine entsprechende Resistenzverminderung eintrat. Es kann also kein Zweifel darüber sein, daß das Salz an sich, dank dem L., für diese Änderung verantwortlich ist.

In dieser Verbindung soll erst die Frage erörtert werden, wie schnell diese Änderung eintritt.

Tabelle XXI.

Blut Nr. 29	Verdünnung mit Wasser in % 20	30	40	50	60
NaCl-Blut + 0,05 ccm Rz		0	+	+++−	total
NaCl-Blut + 0,05 ccm L., gleich zentrf.	0	0	+	total	
NaCl-Blut + 0,05 ccm L., nach 5 Min. „	0	−	++−	total	
NaCl-Blut + 0,05 ccm L., nach 1 Std. „	0	+	total	total	
NaCl-Blut + 0,05 ccm L., nach 24 Std. „	0	+−	total	total	

Die Veränderung tritt also nicht allzu rasch ein, sondern erfordert eine gewisse Zeit. In anderen Versuchen wurde nachgewiesen, daß sie nach 15 Minuten noch nicht ganz ausgebildet ist. Ganz anders verhalten sich die Blutkörperchen nach CO_2-Behandlung, indem hier die Änderung, d. h. die HCl-Beladung, augenblicklich festgestellt wird und mit der Zeit nicht fortschreitet.

Es fragt sich dann, wieviel Zeit die L.-Aufnahme oder die Salzeinwirkung erfordern. Die folgende Tabelle zeigt Versuche, in denen Rzblut zuerst mit L. während einer Stunde beladen wurde und wo nachher die Blutkörperchen in Salzlösung übergeführt wurden.

Tabelle XXII.

Blut Nr. 31	Verdünnung mit Wasser in % 30	40	50	60
1 Rz-Blut + 0,1 ccm L., 1 Std. zentrf. Bl + ($NaCl + H_2O$)	0	0	0	+
2 Rz-Blut + 0,1 ccm L., 1 Std. zentrf. Bl + NaCl; nach 15 Min. verdünnt	0	+	total	total
3 Rz-Blut + 0,1 ccm L., 1 Std. zentrf. Bl + NaCl; nach 1 Std. verdünnt	0	+	total	total
4 Rz-Blut + 0,1 ccm L., 1 Std. zentrf. Bl + NaCl; nach 2 Std. verdünnt	0	+	total	total
5 Rz-Blut ohne L. zentrf., Bl + NaCl; nach 1 Std. verdünnt	0	0	0	++

Während also Rzblut ohne L. nach Digestion mit NaCl-Lösung nach 1 Stunde ungefähr dieselbe ursprüngliche Resistenz zeigt (im Versuch 1 wurde die Rz-Lösung mit vorher gemischten Lösungen von Wasser und Salz ersetzt), war bei L.-beladenen Blutkörperchen schon nach 15 Minuten die veränderte Resistenz definitiv eingetreten, die nach 2 Stunden nicht weiter fortgeschritten war.

Wenn wir gefunden haben, daß NaCl auch ohne Gegenwart von CO_2 mit L. zusammen die Resistenz vermindert, so fragt es sich weiter, inwieweit die Blutkörperchen dank der L.-Beladung für die Salzmoleküle permeabel geworden sind,

oder ob vielleicht eine Dissoziation der Säure durch das L. stattfindet, so daß die eine Komponente hindurchgeht.

Diese Frage hat vom theoretischem Standpunkte aus ein bedeutendes Interesse. Die wichtigsten Nahrungsmittel, Kohlenhydrate und Eiweißkörper (bzw. Aminosäuren), sind für die Zellmembran impermeabel. Wenn sie trotzdem tatsächlich aufgenommen werden, müssen sie entweder im Blute als lipoidlösliche Verbindungen mit anderen Körpern vorkommen, oder es muß die Lipoidmembran zeitweise jedenfalls ihre osmotischen Eigenschaften verändern. Wenn wir jetzt gefunden haben, daß die L.-Beladung unzweifelhaft die Permeabilität der Blutkörperchen gegenüber Salzen — in casu NaCl — verändert, kann diese Tatsache zur Erklärung dieser Verhältnisse eventuell beitragen, wenn wir erstens einmal feststellen können, daß die Salzmoleküle tatsächlich, dank der L.-Beladung, diosmieren und zweitens den Mechanismus eventuell erklären können.

Wir haben schon bewiesen, daß das L. auch bei Gegenwart von Salzen aufgenommen wird, und weiter, daß L.-beladene Blutkörperchen in Rz-Lösung eine unveränderte Resistenz beibehalten, während die Gegenwart von Salzen eine verminderte Resistenz bedingt. Wenn sie durch eine Diosmose der Salze verursacht wird, muß man annehmen, daß die Salze in dem aufgenommenen L. der Lipoidmembran sich lösen und aus dieser Lösung weiter ins Innere diffundieren, bis Gleichgewicht eingetreten ist. Das L. der Lipoidmembran ist also das Lösungsmittel der Salze und bildet die Voraussetzung der Diosmose. Inwieweit die Salzmoleküle als solche oder nach elektrischer oder hydrolytischer Dissoziation als Ionen bzw. Säuren und Basen durchgehen, soll den Gegenstand späterer Überlegungen bilden. Die Wichtigkeit der Frage nach der Diosmose fordert aber zuerst weitere Belege.

Es ist klar, daß die Osmose von dem Druck der Salze abhängig sein muß, indem der Teilungskoeffizient zwischen den beiden Medien Wasser und L. der Lipoidmembran ein konstanter ist. Vermehrt man infolgedessen die Salzquantität der umgebenden Salzlösung, so muß mehr Salz hindurchgehen, und die Blutkörperchen müssen demgemäß nach Überführung in hypoisotonische Salzlösungen einen entsprechend größeren osmotischen

Druck bzw. geringere Resistenz zeigen, indem Wasser schneller als das Salz durchgeht.

Die entsprechenden Versuche wurden derartig angestellt, daß teils gewöhnliches NaCl-Blut mit L. und teils dasselbe Blut mit L. und 0,1 ccm 26%iger NaCl-Lösung, das nach einstündiger Digestion zentrifugiert wurde, und die Lösungen mit denselben verdünnten NaCl-Lösungen versetzt wurden.

Tabelle XXIII.

Blut Nr. 31	Verdünnung mit Wasser in % 20	30	40	50	60
a) Rz-NaCl-Blut + 0,1 ccm L. usw. .		—	total	total	total
b) Rz-NaCl-Blut + 0,1 ccm 26% NaCl + 0,1 ccm L. usw.	—	total	total	total	total

Während also die Probe a bei 30% Verdünnung nur eine Spur von Hämolyse zeigt, ist bei Probe b bei derselben Konzentration totale Hämolyse eingetreten.

Obwohl diese Versuche sehr beweisend sind, dürften doch die folgenden noch entscheidender sein.

In meiner Publikation über die Permeabilität der Blutkörperchen ist bewiesen, daß eine Resistenzverminderung des NaCl-Blutes nach Durchleitung von CO_2 eintritt; indem hier die freigemachte HCl hineindiffundiert (Säuren sind auch für gewöhnliche Blutkörperchen permeabel), geht sie mit dem Alkali, das sonst als Eiweißverbindung vorkommt, eine Verbindung ein. Also wird der intracelluläre Salzgehalt vermehrt, und die Folge ist ein entsprechend vermehrter osmotischer Druck. Wird aber jetzt etwas Soda hinzugefügt, so muß die Salzsäure der chemischen Affinität nach herausdiffundieren, da die Soda nicht permeabel ist. Folglich sinkt jetzt der osmotische Druck, indem das intracelluläre Alkali sich wieder mit Eiweiß verbindet. (Dies unter der Voraussetzung, daß die Sodaquantität gegenüber dem intracellulären Alkali bedeutend ist.) Eine ähnliche, obwohl nicht so ausgesprochene Druckverminderung zeigt gewöhnliches NaCl-Blut, da die Blutkörperchen gewöhnlich etwas CO_2 enthalten. Aus meiner erwähnten Abhandlung erlaube ich mir einige diesbezügliche Versuche anzuführen.

Tabelle XXIV.

Blut Nr.	Verdünnung mit Wasser in % 30	35	40	45	50	55	65
NaCl-Blut	0	—	+		total		
NaCl-Blut + 0,1 ccm Soda (isotonisch)				0		—	total
NaCl-Blut + CO_2	+	++	total		total		
NaCl-Blut + CO_2, zentrf. Bl + NaCl + Soda . . .				+		+++	total

Wenn also das L.-beladene NaCl-Blut tatsächlich für Salze permeabel geworden ist, dürfte man annehmen, daß eine Sodabehandlung keinen solchen Effekt aufweisen sollte. Eher könnte man einen größeren Druck erwarten. Dies trifft auch tatsächlich zu.

Tabelle XXV.

Blut Nr.		Verdünnung mit Wasser in % 20	30	40	50	60
31 Std. zentrf.	Rz-NaCl-Blut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm 0,85% NaCl		—	total	total	total
	Rz-NaCl-Blut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm 1% Soda	—	+—	total	total	
	Rz-NaCl-Blut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm 1% $NaNO_3$		—	total	total	
32 Nach 1	NaCl-Blut + 0,1 ccm L.; nach ½ Std. + 0,1 ccm K_2CO_3 ½ Std. zentrf.		0	0	+++	total
	NaCl-Blut + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm NaCl		—	+—	total	total

Stellt man die Ergebnisse der Sodabehandlung mit und ohne Gegenwart von L. einander gegenüber, so ist der Unterschied ein frappanter. Und nur eine Folgerung ist anscheinend möglich: Die Blutkörperchen sind für Kochsalz dank dem L. permeabel geworden.

Zuletzt bleibt noch zu untersuchen, wie sich altes Rzblut nach Einwirkung von L. und NaCl verhält. In den folgenden Versuchen kamen ein 3 Tage altes Rzblut (hier sind die meisten intracellulären Salze herausdiffundiert) und ein 4 Stunden altes Rzblut zur Untersuchung.

Tabelle XXVI.

Blut Nr.		Verdünnung mit Wasser in % 30	40	50	60	70
32 nach ½ St. zentrf.	Altes Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Rz		0	0	0	0
	Altes Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm 26% NaCl		—	+	+—	++
	Frisches Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Rz	0	0	0	—	
	Frisches Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm 26% NaCl	0	0	+	+++	

Obwohl das frische Rzblut eine größere Resistenzverminderung zeigt als altes, kann es doch nicht bezweifelt werden, daß auch das alte Rzblut eine Permeabilität (oder richtiger eine weit größere Permeabilität als normal) für Kochsalz nach L.-Beladung erworben hat.

Von den übrigen Salzen sind $CaCl_2$ und K_2CrO_4 untersucht worden. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle XXVII.

Blut Nr.		Verdünnung mit Wasser in % 40	50	60	70
25	Rzblut	–	+++–	total	total
	Rzblut + 0,1 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ + 0,1 ccm L.	0	+–	+++	total
26	Rzblut + 0,1 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ + 0,15 Rz	–	+++–	total	total
	Rzblut + 0,1 ccm $^n/_{10}$-$CaCl_2$ + 0,1 ccm Rz + 0,05 ccm L.	–	++	total	total
29	Rzblut + 0,1 ccm $^n/_1$-Chromat		0	0	total
	Rzblut + 0,1 ccm $^n/_1$-Chromat + 0,05 ccm L.	0	++	total	total

nach 1 St. zentrf.

Chromat bewirkt demnach eine Resistenzverminderung und ist durchlässig, $CaCl_2$ anscheinend nicht. Der Widerspruch ist nur anscheinend und leicht erklärlich, wenn man sich erinnert, daß eine ca. 20%ige Chromatlösung, aber nur eine 1%ige $CaCl_2$-Lösung benutzt worden sind. Die $CaCl_2$-Konzentration des Rzblutes ist also etwa 0,05%ig und demnach kann nur eine äußerst geringe Menge aufgenommen werden.

Zuletzt bleibt die wichtige Frage zu berücksichtigen, inwieweit das Salz als solches oder nach stattgehabter Dissoziation hindurchgeht. Für die erste Möglichkeit spricht die schon von Bing gefundene Tatsache, daß NaCl und andere Salze in L. löslich sind. Überhaupt sind viele Phosphatide ein Lösungsmittel für Salze, und man muß bei der Phosphatiddarstellung auf solche Verunreinigungen besonders vorbereitet sein. Weiter gehen auch Phosphatide mit Salzen Verbindungen ein — allbekannt sind ja die $CdCl_2$- und $PtCl_4$-Verbindungen, die nach stöchiometrischen Verhältnissen stattfinden. Obwohl das Handelslezithin nur denaturierte Phosphatide enthält, wissen wir doch, daß dasselbe mit $CdCl_2$ z. B. reagieren kann.

Auch eine andere Möglichkeit bleibt zu berücksichtigen. Das L. enthält freie Fettsäuren. Es wäre denkbar, daß diese

mit dem hydrolytisch dissoziierten Alkali sich verbinden und daß dann die Säure als leicht permeabel hindurchgeht. Die Ergebnisse der Sodabehandlung sprechen nicht absolut gegen diese Auffassung, da dieses Salz bekanntlich stark hydrolytisch dissoziiert ist. Das Alkali könnte also aufgenommen werden.

Die Entscheidung, welche von diesen Möglichkeiten die richtige ist, geben folgende Überlegungen. Wenn die Lipoidmembran dank dem L. für Salzmoleküle permeabel geworden ist, darf man erwarten, daß das Salz kontinuierlich hindurchgeht, bis Gleichgewicht der Konzentration in der Membran, in der umgebenden Lösung und im Inneren eingetreten ist, also bis die Blutkörperchen platzen (selbst wenn eine entsprechende Exosmose des intracellulären Salze stattfinden könnte, müßte doch der Quellungsdruck dies bewirken). Wie erwiesen geht aber die Osmose anfangs sehr rasch, und nach relativ kurzer Zeit hört die Diffusion auf; nach 15, 60 und 120 Minuten zeigen die Blutkörperchen dieselbe Resistenz (Tab. XII). Sogar nach 24 Stunden wird unverändert dieselbe Resistenz gefunden. Dies läßt sich nicht gut mit einer einfachen Diffusion des Salzes in Übereinstimmung bringen. Denken wir uns dagegen, daß das Alkali mit dem L. sich verbindet und nicht weiter eindringt, so kann einerseits die Salzsäure so lange hineindiffundieren, bis die Alkalikonzentration in der Lipoidmembran und im Zellinnern gleich geworden ist. Auf der anderen Seite kommt aber das absolute Bindungsvermögen des L.s für Alkali in Betracht, das von dem Partialdruck des hydrolysierten Alkalis der Lösung abhängig sein muß. Setzt man also die reichlich dissoziierte Soda hinzu, so kann mehr Alkali aufgenommen werden und eine entsprechende Säuremenge hindurchgehen. Dagegen kann selbstverständlich, jedenfalls in diesem Falle, keine Salzsäure exosmieren. Hiermit steht in Übereinstimmung, daß NaCl-L.-beladene Blutkörperchen durch Chromatbehandlung eine größere Resistenz bekommen (Tab. XX), indem die Salzsäure schneller aus- als die Chromsäure hineindiffundieren muß — ganz anders als CO_2. Es ist ferner ganz klar, daß unter dieser Voraussetzung die aufgenommene L.-Quantität von Bedeutung ist. Je mehr L. vorkommt, um so mehr Alkali kann mit L. in Verbindung treten, und um so mehr Säure kann hindurchgehen, bis schließlich der Überdruck so groß wird, daß die Blutkörperchen platzen. Hier-

mit hat also die Hämolyse durch L. eine zufriedenstellende Erklärung gefunden.

Zwar steht eine Eventualität noch offen. Ich habe noch den Beweis zu führen, daß tatsächlich mehr Säure aufgenommen werden kann und daß also das intracelluläre Alkali nicht z. B. in den erwähnten Versuchen (Tab. XXII) nach 15 Minuten vollständig neutralisiert worden ist. Der Beweis ist sehr einfach zu liefern: Durchleitung von CO_2 bewirkt eine noch größere Resistenzverminderung.

Wie anfangs gezeigt wurde, wird die Resistenz des Rzblutes durch Beladung mit L. nicht verändert. Demgemäß kann man folgern, daß die Blutkörperchen durch L.-Beladung nicht für Rohrzucker durchlässig geworden sind.

Nachdem wir die Beziehungen zwischen L., Salz und Blutkörperchen auseinandergesetzt haben, können wir zu der Frage übergehen, welche Rolle dem Kobragift zukommt.

Schon vorher (Tab. XIV) wurde gezeigt, daß die Hämolyse durch Kobragift + L. durch Zusatz von Salzen verhindert werden kann, besonders wenn die L.-Quantität nicht zu groß ist. Weiter wurde erwähnt, daß oft (wenn nämlich das Blut empfindlich gegen Kobragift war) augenblicklich eine Hämolyse nach Überführung in Rz-Lösung, Chromat-Rz-Lösung oder isotonischer Chromatlösung eintritt. Ebenfalls wurden solche Blutkörperchen nach Überführung in reine Kochsalzlösungen durch Zusatz von L hämolysiert. Hieraus wurde gefolgert, daß das Gift trotzdem aufgenommen worden war, aber dank den Salzen in irgendwelcher Weise nicht Hämolyse bewirken konnte.

Nach den erfolgreichen Verdünnungsversuchen der L.-beladenen Blutkörperchen war es sehr naheliegend, ähnliche Versuche mit Gift- und L.-beladenen Blutkörperchen anzustellen. Ein Vergleich mit allein mit L. beladenen Körperchen dürfte exakt zeigen können, inwieweit die Giftbeladung einen Einfluß auf die Permeabilität ausübt. In den folgenden Versuchen wurden die Blutkörperchen 1 Stunde bei 18° mit Kobragift (0,02% in Rz-Lösung), L. (0,1% in Rz-Lösung) und Salz digeriert. Nachher wurden Verdünnungsversuche angestellt.

Tabelle XXVIII.

Blut Nr.		Verdünnung mit Wasser in % 20	30	40	50	60
25 a	Rzblut allein		0	–	—+++	total
b	Rzblut + 0,1 ccm n/10-$CaCl_2$ + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm Rz		0	–	++–	total
c	Rzblut + 0,1 ccm n/10-$CaCl_2$ + 0,1 ccm L. + 0,1 ccm Kobral.		0	++	total	total
26 a	Rzblut + 0,1 ccm n/10-$CaCl_2$ + 0,15 ccm Rz		0	–	+++–	total
b	Rzblut + 0,1 ccm n/10-$CaCl_2$ + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Rz		0	–	++	total
c	Rzblut + 0,1 ccm n/10-$CaCl_2$ + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral.		+	++	total	total
29 a	Rzblut + 0,1 ccm n/1-Chromat		0	0	0	total
b	Rzblut + 0,1 ccm n/1-Chromat + 0,05 ccm L.		0	++	total	total
c	Rzblut + 0,1 ccm n/1-Chromat + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral.	+++	+++–	total	total	
27	Chromat-NaCl-Blut + 0,15 ccm Rz		0	0	+	total
	Chromat-NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Rz		0	+++–	total	total
	Chromat-NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral.	–	total	total	total	total
28	NaCl-Blut + 0,15 ccm Rz		0	0	+	total
	NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Rz		0	+	total	total
	NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral.	0	+++	total	total	total

Als konstantes Ergebnis findet man also nach Einwirkung von Kobragift bei Gegenwart von L. und den Salzen NaCl, Kr_2CrO_4 und $CaCl_2$ eine wesentlich größere Resistenzverminderung, als L. allein zu bewirken vermag. Und es kann wohl kaum ein Zweifel darüber existieren, daß diese Resistenzverminderung einem vermehrten Druck der Zelle entspricht oder mit anderen Worten, daß Kobragift eine noch größere Permeabilität der Lipoidmembran für Salze bewirkt hat. Daß auch eine solche Schlußfolgerung in der Tat zutreffend ist, zeigen die folgenden Versuche ganz unzweideutig.

Tabelle XXIX.

Blut Nr.		Verdünnung mit Wasser in % 30	40	50	60	70
29 1	Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral., nach 1 St. zentrf. Bl. (NaCl + H_2O)		0	0	0	+
2	Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral., nach 1 St. zentrf. Bl. + (NaCl nach 20 Min. zentrf.)	—	+	+++	total	
3	Rz-NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral., nach 1 St. zentrf.	—	++	+++–	total	
4	Rz-NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobral, nach 1 St. zentrf. Bl + Rz; nach 1 St. zentrf. Bl. + (NaCl + H_2O)	0	0	—	++	

Das Rzblut war relativ unempfindlich (24 St. alt) und ließ sich demgemäß nach Behandlung mit Gift, Aktivator und Salz ohne Hämolyse in Rz-Lösung überführen.

Die Versuche sind sehr überzeugend. Wenn die mit Kobragift + L. beladenen Rzblutkörperchen direkt in verdünnte NaCl-Lösung übergeführt wurden (in den Versuchen 1 und 4 war die NaCl-Lösung vorher mit Wasser verdünnt), tritt erst bei 60 bis 70%iger Verdünnung schwache Hämolyse ein. Nach einer Digestion von 20 Minuten mit 0,85%iger NaCl-Lösung zeigt die Verdünnung bis 40% denselben Hämolysegrad. Und daß die Salzdiffusion schon jetzt in ein Gleichgewicht gekommen ist, läßt sich aus Versuch 3 folgern. Zuletzt zeigt Versuch 4, daß das aufgenommene Salz nach Überführung in Rz-Lösung schnell wieder herausdiffundiert. Empfindliche Blutkörperchen platzen nach Einwirkung von Gift, Aktivator und Salzen augenblicklich, wenn sie in isotonische Rz- oder Chromatlösungen übergeführt werden. Selbst wenn man annimmt, daß empfindliche Blutkörperchen dank einer reichlicheren Kobrabeladung mehr Salz aufgenommen haben, ist es doch nicht recht verständlich, daß man nicht die isotonische NaCl-Lösung ohne Schaden durch eine andere isotonische Lösung ersetzen kann. Es ist aber eine Tatsache, daß solche Blutkörperchen platzen, und es ist gar nicht nötig, anzunehmen, daß Kobragift mit im Spiele ist. Wird z. B. Kohlensäure reichlich durch NaCl-Blut geleitet, so bleiben die NaCl-beladenen Blutkörperchen zwar in der NaCl-Lösung unverändert, platzen aber augenblicklich nach Überführung in Rz-Lösung. Man kann sich vorstellen, daß die schnelle Exosmose rein mechanisch die Lipoidmembran zerrissen hat. Hierfür spricht, daß eine Überführung in isotonische Salzlösung, wie Natriumnitrat, keine Hämolyse bewirkt, während die Blutkörperchen nach Überführung in Chromatlösung platzen.

Ebenso wie bei der L.-Beladung allein bleibt auch hier die Frage zu berücksichtigen, in welcher Weise die vermehrte Permeabilität von dem Gift verursacht wird. Hier haben wir zwischen zwei Möglichkeiten zu entscheiden. Entweder stellt das Gift selbst ein Medium der Salzpassage durch die Membran dar oder das Gift verursacht gewisse Änderungen der normalen Zusammensetzung der Lipoidmembran, die eine abnorme Durchlässigkeit zur Folge haben. Zuerst sei daran erinnert,

daß das Gift von dem Alkali der Lipoidmembran aufgenommen wird. Diese Verbindung ist reversibel, und nach Entfernung des Giftes sind die Blutkörperchen ganz unverändert geblieben. Eine solche Giftbeladung bewirkt auch keine Änderung der Permeabilität, wie oben für Rzblut bewiesen ist.

Von diesem ersten Receptor geht aber das Gift auf einen zweiten Receptor über, und durch Verbindung mit demselben wird die Hämolyse des Rzblutes ausgelöst. Fehlt aber der zweite Receptor, so kann keine Hämolyse stattfinden, selbst wenn beliebige Giftquantitäten vom ersten Receptor aufgenommen worden sind. Wir haben nun keinen Grund, anzunehmen, daß der Mechanismus der Giftwirkung prinzipiell verschieden ist, wenn L. dabei ist. Dagegen sprechen sämtliche Versuche (siehe oben) für die eben erwähnte Auffassung. Dementsprechend dürfte die Funktion des L.s bei der Rzbluthämolyse darin bestehen, daß es das Gift von dem ersten Receptor auf den zweiten Receptor überführt. Es ist klar, daß mehrere Umstände die Überführung des Giftes von dem einen auf den anderen Receptor erschweren können, z. B. die Affinität des Giftes zum ersten Receptor, der Alkali ist. Die Versuche mit Kobragift, L. und Salzen zeigen, daß eben das Kobragift dank seiner Affinität zum L. trotz Gegenwart von Salzen aufgenommen wird. Es ist also gut verständlich, daß das Gift aus seiner Verbindung mit dem ersten Receptor, dem Alkali, von L. aufgenommen und zum zweiten Receptor, wahrscheinlich auch ein Lipoidstoff, übergeführt wird, wie die Versuche mit kobragift-beladenen Rzblutkörperchen zeigen.

Gegen eine solche Erklärung läßt sich nun anführen, daß altes Rzblut, wo der Receptor herausdiffundiert ist, auch gegen Kobragift + L. refraktär ist, während man sonst erwarten sollte, daß dieser erste Receptor bei Gegenwart von L. so ziemlich gleichgültig sein muß. Hierzu ist aber zu bemerken, daß ich zwar in meiner zweiten Mitteilung gefunden habe, daß man „bisweilen" durch Alkalibehandlung solches altes Rzblut reaktivieren kann. Das „Bisweilen" zeigt aber an, daß auch andere Umstände in Betracht kommen, indem also anderseits auch nicht immer eine Alkalibeladung das Blut reaktivieren kann. Man kann nun solche, auch nach Alkalibehandlung fortwährend refraktären Blutkörperchen mit den nach L.-Behand-

lung fortwährend refraktären vergleichen. Sehr plausibel wäre die Erklärung, daß bei solchen Blutkörperchen auch der zweite Receptor z. B. durch Oxydation derartig verändert worden ist, daß er nicht mehr mit Kobragift reagieren kann. (Die Tatsache, daß man nach 24 Stunden gewöhnlich mit Gift + L. Hämolyse erzielen kann, während Kobragift allein hier wenig oder nicht wirksam ist, spricht auch für diese Auffassung.) Unter dieser Voraussetzung wird die variable Reaktivierungswirkung des Alkalis gut begreiflich, ebenso wie dieselbe des L.s. Wenn L. unwirksam ist, kann man auch nicht durch eine folgende Salzbehandlung das Blut reaktivieren, trotzdem tatsächlich das L. aufgenommen wird. Ich habe fernerhin Gelegenheit gehabt, eine Reihe Blutsorten zu untersuchen, die auch nach Chromatbehandlung wenig oder nicht gegen Kobragift allein empfindlich waren. Hier konnte man selbst bei NaCl-Blut mit Kobragift und sogar beträchtlichen L.-Quantitäten (bis 0,2 ccm) keine Hämolyse erzielen. Anderseits läßt sich auch bei wenig bzw. unempfindlichem Blute nach L.-Behandlung eine vermehrte Durchlässigkeit für Salze nachweisen. Es kann also kaum bezweifelt werden, daß das Gift auch bei Gegenwart von L. mit dem zweiten Receptor reagiert und daß ferner das Blut für Salze durchlässig wird. Was ist aber durch diese Reaktion geschehen?

Von den beiden oben erwähnten Möglichkeiten ist es a priori nicht wahrscheinlich, daß das Kobragift, wenn einmal mit dem zweiten Receptor verbunden, das Medium der Diffusion bilden kann. Denkbar wäre jedoch, daß das Gift, das eine Säure darstellt, wie das L. wirken und also mit dem Alkali des Salzes in Verbindung treten kann, wodurch die Säure frei und diffusibel werden könnte. Wenn man aber bedenkt, welche minimalen Giftquantitäten zur Hämolyse mit L. zusammen genügen und weiter, daß unter den Bestandteilen des Giftes das Toxin in sehr geringer Menge vorkommt, ist eine solche Eventualität kaum wahrscheinlich.

Wenn aber die Bindung des Giftes das wesentliche wäre, dürfte der Prozeß ein reversibler sein, und mit der Entfernung des Giftes müßte also die ursprüngliche Resistenz (nach Behandlung mit L. allein) zurückkommen. Wenn dagegen das Gift durch die Reaktion mit dem zweiten Receptor größere Ände-

rungen der Zusammensetzung der Membran bewirkt hat, dürften auch nach der Entfernung des Giftes diese Änderungen fortdauern. Es fragt sich also, inwieweit das Gift tatsächlich wieder aus dieser Verbindung herausgelöst werden kann. Wenig aussichtsvoll scheint die Verwendung von Salzen, Säuren und Basen zu sein. Dagegen dürfte manv ermuten, daß das Antivenenin hier gute Dienste leisten konnte, da besonders Calmette gezeigt hat, daß das Antivenenin auch nach eingetretener Vergiftung wirksam ist, ja lebensrettend wirkt.

Nun ist es bekannt, daß das Antivenenin Blutkörperchen in NaCl-Lösung für Hämolyse durch Kobragift + L. schützen kann. Dagegen wissen wir nicht bestimmt, ob das Gift aufgenommen wird oder nicht, was eben für die genauere Analyse der Erscheinung von Bedeutung ist. Dies mußte also festgestellt werden, ehe man zur Untersuchung überging, inwieweit das Antivenenin das schon beladene, mit dem zweiten Receptor verbundene Kobragift wieder herauslösen konnte. Zuerst wurde durch hämolytische Versuche der gegenseitige Titer des Giftes (0,02%) und der Antiveneninlösung (Av.) bestimmt. Weiter wurde NaCl-Blut teils mit L. allein, teils mit L. + Gift (0,1 ccm) und teils mit Gift (0,1 ccm) + Av. und nach $^1/_2$ Stunde zudem mit L. digeriert. Nach $^1/_2$ Stunde wurden die Proben untersucht.

Tabelle XXX.

	Verdünnung mit Wasser in %			
Blut Nr. 33	20	30	40	50
1 Rz-NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Rz	0	—	+—	total
2 Rz-NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,1 ccm Kobra	—	total	total	total
3 Rz-NaCl-Blut + (Av. + Kobra) nach $^1/_2$ St. + 0,05 ccm L.	0	+	total	total

Av. hat sich also wirksam erwiesen, obwohl nicht die gesamte Kobramenge neutralisiert worden ist. Dies konnte man auch nicht nach so kurzer Zeit erwarten. Das Av. war in 0,85%iger NaCl-Lösung gelöst. Um überall dasselbe Volum zu erhalten, wurden die Proben 3 erst zentrifugiert und ein Teil der Lösung mit Av. ersetzt.

Bei der Anstellung des Hauptversuches wurden die Proben erst mit Gift, L. und $CaCl_2$ digeriert. Nach 1 Stunde wurde zentrifugiert und die Proben teils mit 0,5 ccm Av. in NaCl-Lösung + 1,5 ccm Rz teils mit 0,5 ccm NaCl-Lösung + 1,5 ccm Rz versetzt. Nach einstündigem Aufenthalt bei 37° wurde zentri-

fugiert, die Blutkörperchen mit NaCl-Lösung (2 ccm) versetzt und nach 1 Stunde wurden Verdünnungsversuche angestellt.

Tabelle XXXI.

	Verdünnung mit Wasser in %			
Blut Nr. 33	20	30	40	50
Chromat-Rz-$CaCl_2$-Kobral. usw. NaCl	+	+—	total	total
Chromat-Rz-$CaCl_2$-Kobral. usw. Av.	total	total	total	total

Wie ersichtlich, ist jedenfalls eine Restitutio ad integrum nicht eingetreten. Und daß tatsächlich das Av. nicht unwirksam gewesen ist, zeigen die Kontrollversuche, in denen die Blutkörperchen nach $CaCl_2$-, Kobra- und L.-Behandlung mit Av. bzw. NaCl behandelt wurden und nach dem Abzentrifugieren der Lösung mit 2 ccm NaCl + 0,05 ccm L. versetzt wurden. Hier zeigte die NaCl-Probe +++, die Av.-Probe aber 0. Also trat nach Av.-Behandlung keine Hämolyse durch L. ein, folglich ist die Neutralisation des Giftes eingetreten. Trotzdem aber ist die Permeabilität noch größer geworden als dort, wo das Gift eingedrungen ist.

Hierdurch ist mit Wahrscheinlichkeit (exakt beweisend sind die Versuche allerdings nicht) erwiesen, daß das Kobragift durch die Verbindung mit dem zweiten Receptor gewisse Änderungen der Zusammensetzung der Lipoidmembran bewirkt, die eine vermehrte Permeabilität mit sich führt.

Kyes und Sachs teilen mit, daß das Kobragift bei Gegenwart von L. wenig oder nicht (die Angaben stimmen nicht überein) neutralisiert wird. Hier habe ich das Entgegengesetzte beweisen können. Ich habe auch diese Versuche mit demselben Erfolg wiederholt.

Zuletzt kommt noch die Frage, warum das Kobragift + L. nicht bei Gegenwart von Salzen Hämolyse bewirkt, während es doch tatsächlich aufgenommen wird und sogar mit dem zweiten Receptor in Verbindung tritt.

Es ist schon aus dem Angeführten ganz klar, daß hierbei die quantitativen Verhältnisse maßgebend sein müssen. Wenn wenig Kobragift aufgenommen oder auf den zweiten Receptor übergeführt wird, wird zwar die Permeabilität vermehrt, und Salz geht hindurch, aber nicht so viel, daß die Körperchen platzen. Je mehr Gift aber aufgenommen wird, um so mehr

Salz geht in einer bestimmten Zeit hindurch, und folglich müssen die Blutkörperchen zuletzt platzen.

Die Richtigkeit dieser — übrigens ziemlich selbstverständlichen — Erklärung ist sehr einfach zu beweisen, wenn man nämlich bei einer variablen Kobraquantität eine konstante Verdünnung herstellt. Ein derartiger Versuch ist mit dem Blut Nr. 28 angestellt worden.

Tabelle XXXII.

	Kobralösung in ccm				
	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
NaCl-Blut + 0,05 ccm L. + 0,02 bis 0,1 ccm Kobra nach 4 Std. zentrf. Bl + Chromatlösung	+	++	++−	+++	total

Hier wurden zwar keine Verdünnungsversuche angestellt. Dagegen tritt hier nach Überführung in Chromatlösung Hämolyse da ein, wo die Salzaufnahme groß ist. Und die Unterschiede des Hämolysegrades zeigen hier ganz unzweideutig, daß die Permeabilität von der gegebenen Kobraquantität abhängig ist.

Wenn also Kobragift, L. und Salz vorhanden sind, verteilt sich das Gift zwischen L. und Salz. Deswegen kann man die Hemmung des Salzes durch Zusatz von mehr L. leicht überwinden und wieder durch erneuten Zusatz von mehr Salz die Hämolyse verhindern. Hierbei wird also vorausgesetzt, daß das Kobragift von L. entweder einfach physikalisch adsorbiert oder dissoziabel gebunden wird. Alle Erscheinungen sprechen auch für eine solche Schlußfolgerung — und ebenfalls die Analogien der L.-Adsorption von Zucker u. dgl. Andererseits ist eine chemische Verbindung zwischen L. und Kobragift, wie in meiner ersten Abhandlung bewiesen ist (und keiner hat diese Auffassung widerlegen können), ganz unmöglich anzunehmen.

Abgesehen davon, daß dies L. selbst ein Gemisch von heterogenen Bestandteilen darstellt, von denen man ohne Kobragift ein Produkt mit denselben Eigenschaften des „Kobralecithids" darstellen kann, ist es unmöglich, eine Verbindung aufzustellen, mit der Konstitution von 1 Molekül Gift auf 100 Moleküle L.

Es läßt sich auch direkt, und zwar bei wenig empfindlichen, Blutkörperchen nachweisen, daß weniger Gift bei Gegenwart von Salzen aufgenommen wird.

Tabelle XXXIII.

Blut Nr. 24	Kobralösung in ccm 0,02	0,04	0,06	0,08	0,10
a) Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,02 bis 0,1 ccm Kobral.	0	0	–	–	+
b) Rzblut + 0,05 ccm L. + 0,02 bis 0,1 ccm Kobral. + 0,1 $^n/_{10}$-$CaCl_2$, nach 1 Std. bei 18° zentrf. Bl + Rz + 0,05 ccm L.	0	0	0	0	0

Obwohl also die Blutkörperchen b viel mehr L. als a enthalten, ist Hämolyse nicht eingetreten, und nur bei den $CaCl_2$-Versuchen wird bei empfindlichem, giftbeladenem Blute eine ausgiebige Hämolyse durch nachträglichen Zusatz von L. erzielt (vgl. Tabelle XV).

Es ist aber unzweifelhaft, daß bei der Salzbehandlung ein Teil des Giftes sich mit dem von L. aufgenommenen Alkali verbindet und hieraus nicht auf den zweiten Receptor übergeht. Solche kobrabeladenen Blutkörperchen werden glatt durch Zusatz von mehr L. hämolysiert. Dieses letzte L. nimmt also das Gift aus der Alkaliverbindung des L.s fort und führt es auf den zweiten Receptor über, ganz analog wie kobrabeladene Rzblutkörperchen durch Zusatz von L. hämolysiert werden (vgl. Tabelle VI). Hierdurch wird auch das merkwürdige Verhalten erklärt, daß Blutkörperchen nach Digestion mit Salz, Kobragift und L. ausgiebiger als das ursprüngliche Blut hämolysiert werden, wenn sie in neuen Salzlösungen mit L. versetzt werden (Tabelle XV). Das alkalihaltige L. hat reichlich Gift aufgenommen, das hier eingedrungen ist.

So sind wir zu der Schlußfolgerung gekommen, daß die Lipoidmembran dank dem Kobragift und dem L. für Salze permeabel geworden ist. Bei der Hämolyse des NaCl-Blutes tragen also sowohl Gift wie Aktivator zur Hämolyse bei, und dieselbe stellt die Summation der beiden Einzelwirkungen dar. Dazu kommt noch die spezifische Wirkung des Aktivators in bezug auf die Überführung des Kobragiftes auf dem zweiten Receptor, wo die Kobrawirkung stattfindet. Welcher der beiden Faktoren, Gift oder L., in bezug auf Hämolyse die Hauptrolle spielt, ist schwer zu beurteilen und wird auch sehr von dem proportionalen Verhältnis der beiden abhängen. Bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung aber (0,02 bis 0,01 ccm 0,02%ige Kobralösung + 0,05 bis 0,10 ccm 0,1%ige L.-Lösung) dürfte

jedenfalls die Kobrawirkung in erster Linie kommen. Erst bei ca. 0,2 ccm L. fängt die L.-Hämolyse gewöhnlich an. Es ist klar, daß bei der Verwendung einer wässerigen- bzw. wässerig-methylalkoholischen L.-Lösung ein neues Moment, das auch zur Hämolyse beiträgt, hereingebracht wird.

Betreffs der Hämolyse des Rzblutes spielt das L. als Haemolyticum, wenn überhaupt, jedenfalls eine sehr untergeordnete Rolle, und man kann auch hier weit größere L.-Quantitäten verwenden, ohne L.-Hämolyse zu befürchten, als beim NaCl-Blut. Hier kommt also hauptsächlich oder ausschließlich nur das Gift selbst in Betracht, und die Bedeutung des L. besteht nur darin, daß es das Gift aus dem ersten Receptor auf den zweiten Receptor überführt und weiter gewissermaßen die Giftaufnahme der Blutkörperchen aus der Lösung befördert.

Es kann auch kein Zweifel darüber herrschen, daß die Hämolyse des Rzblutes darin besteht, daß die Blutkörperchen für Rohrzucker permeabel werden. Dies kann also, wie die Versuche zeigen, eine L.-Beladung nicht bewirken. Der direkte experimentelle Beweis für die Auffassung, daß das Kobragift eine Rz-Permeabilität bewirkt, ist schwer zu liefern. Denn mit dem ersten Receptor oder dem L. verbunden, bewirkt das Gift selbstverständlich keine Änderung der Permeabilität, und wenn es einmal mit dem zweiten Receptor verbunden ist, tritt Hämolyse ein. Es ist mir nicht gelungen, das Moment zu treffen, wo nur so viel Rz durchgegangen ist, daß doch ohne Hämolyse eine Resistenzverminderung nachweisbar war.

Trotzdem glaube ich, daß die Versuche mit Gift, L. und $CaCl_2$ für die Auffassung beweisend sind. Es ist nämlich erwiesen, daß L. + $CaCl_2$ keine nachweisbare Resistenzverminderung bewirkt (der $CaCl_2$-Gehalt ist zu gering). Wenn trotzdem Gift + L. und $CaCl_2$ eine Resistenzverminderung bewirken, kann dies kaum aus dem hineindiffundierten $CaCl_2$ erklärt werden, da der Salzgehalt der Lösung etwa 0,05% ist. Man kann berechnen, daß höchstens 5% Druckveränderung hierdurch zustande kommen kann. Folglich muß hier Rohrzucker hineindiffundiert sein.

Über Lipoproteide und die Deutung der degenerativen Zellverfettung.

V. Weitere Synthesen von Lipopeptiden.[1])

Von

S. Bondi und Franz Eißler.

Aus dem chemischen Laboratorium der Wiener allgemeinen Poliklinik.)

(Eingegangen am 20. Dezember 1909.)

In früheren Arbeiten[2]) konnte gezeigt werden, daß Verbindungen aus Fettsäuren und Aminosäuren darstellbar sind, die bezüglich Färbbarkeit, Löslichkeit und Spaltbarkeit sich ähnlich verhalten, wie es vom „Fetteiweiß" bekannt ist. Um nun in dessen Konstitution tiefer einzudringen und namentlich um die Versuche, die die Auffindung von natürlichen Lipopeptiden bezwecken, aussichtsreicher zu gestalten, schien es wünschenswert, eine größere Zahl solcher Verbindungen darzustellen. Es wurde dabei als leitender Gesichtspunkt betrachtet, daß es nötig sei, einmal die Eigenschaften der Verbindungen niederer und höherer Fettsäuren kennen zu lernen, weiter aber, neben den einfachen Aminosäuren auch Komplexe von Aminosäuren, Polypeptide und schließlich auch Peptone zu den Versuchen heranzuziehen.

In folgender Arbeit sind die Synthesen und Eigenschaften beschrieben von Butyrylglycin, Butyrylalanin, Butyrylalanylglycin, Palmitylalanylglycin, Laurylalanylglycin, Isovalerylglycin, Laurylpepton, Palmitylpepton.

Am Schlusse der Arbeit werden die aus den gemeinsamen Eigenschaften der Körper sich ergebenden Folgerungen kurz besprochen.

---

[1]) Diese und die folgende Mitteilung sind Auszüge aus der Doktordissertation von cand. phil. Franz Eißler.

[2]) Unter gleichem Titel diese Zeitschr. 17.

Zur Ausführung der Synthesen wurde die Schotten-Baumannsche Reaktion verwendet, wieder unter Benutzung jener Modifikationen und Erfahrungen, die E. Fischer und seine Schule bei der Darstellung der Polypeptide gesammelt hat.

Butyrylglycin.

10 g Glykokoll werden in 134 ccm $^n/_1$-Natronlauge gelöst und zu der durch eine Kältemischung gekühlten Lösung 14,2 ccm n. Butyrylchlorid und 200 ccm $^n/_1$-Natronlauge abwechselnd zugetropft und geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion, die ca. $1^1/_2$ Stunden in Anspruch nimmt, wird mit 66 ccm zirka 5fach normaler Salzsäure angesäuert, wobei keine Fällung eintritt. Zur Isolierung des Butyrylglycins wurde im Vakuum zur Trockene verdampft, und der völlig trockene Rückstand, der nicht nach Buttersäure riechen darf, mit Äther im Soxhletschen Apparate durch mehrere Stunden extrahiert. Nach dem Abdestillieren des Äthers, zum Teil noch während der Extraktion, erhält man das Butyrylglycin in schönen, großen, blätterigen Rhomben.

Die Ausbeute betrug 15 g, d. i. 78% der Theorie. Wird die das Reaktionsgemisch enthaltende Flüssigkeit unmittelbar nach dem Ansäuren mit Äther im Scheidetrichter geschüttelt, so erhält man ein gelbliches Öl, das auch nach Behandlung mit Petroläther nicht krystallisiert. Zur Analyse wurde 1 g aus 70 ccm Äther umkrystallisiert.

I. 0,2035 g Substanz gaben 0,3694 g CO_2 und 0,1415 g H_2O.
II. 0,1980 g Substanz gaben bei B. 746 mm und T. 19° 16,8 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.	Berechnet für $C_6H_{11}O_3N$ (Mol. 145)
C	49,51%	—	49,65%
H	7,72%	—	7,58%
N	—	9,52%	9,65%

Die umkrystallisierte Substanz stellt ein farbloses, nicht hygroskopisches Pulver dar, das bei 65° zu sintern beginnt und bei 70° klar geschmolzen ist.

Butyrylglycin ist in Wasser, Methyl-, Äthylalkohol, Eisessig und Aceton bei Zimmertemperatur, in Äther und Benzol in der Hitze löslich, in Petroläther unlöslich.

Von dem Brombutyrylglycin (E. Fischer und Karl Baske, Annal. d. Chem. 340. 123), dessen Schmelzpunkt zwischen 101°

und 105° liegt, unterscheidet es sich durch seine gute Löslichkeit in Wasser.

Natriumsalz des Butyrylglycins.

1 g Butyrylglycin wird in 7 ccm $^n/_1$-Natronlauge gelöst und im Vakuum zur Trockene verdampft, der krystallinische Rückstand mit Alkohol extrahiert. Beim Einengen des Alkohols krystallisiert das Natriumsalz in schönen, asbestartig verwachsenen Nadeln aus. Zur Identifikation wurde der Natriumgehalt bestimmt.

0,2257 g Substanz gaben 0,09495 g Na_2SO_4

In 100 Teilen	Berechnet für $C_6H_{10}O_3NNa$ (Mol. 167)
Na 13,63%	Na 13,77%

Butyrylalanin.

5 g Alanin werden in 57 ccm $^n/_1$-Natronlauge gelöst und zu der durch eine Kältemischung gekühlten Lösung werden abwechselnd 6 ccm n. Butyrylchlorid und 82 ccm $^n/_1$-Natronlauge zugetropft und geschüttelt. Nach Beendigung der Reaktion, die ca. 1 Stunde in Anspruch nimmt, wird mit 25 ccm 5fach normaler Salzsäure angesäuert und im Vakuum zur Trockene verdampft. Der mitunter zähe, krystallinische Rückstand wurde von den letzten Resten Buttersäure durch Extraktion im Soxhletschen Apparate mit Petroläther befreit und sodann zur Isolierung des Butyrylalanins mit Äther extrahiert. Nach dem Abdestillieren des Äthers erhält man entweder ein gelbliches Öl, das unter Petroläther bald krystallinisch erstarrt, oder unmittelbar das krystallinische Produkt.

Die Ausbeute beträgt 6,5 g, d. i. 72% der Theorie. Für die Analyse wurde 1 g nochmals in heißem Äther gelöst und mit Petroläther gefällt.

Analysen:

I. 0,1835 g Substanz gaben 0,3541 g CO_2 und 0,1328 g H_2O.
II. 0,1991 g Substanz gaben bei B. 748 mm und T. 17° 15,3 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.	Berechnet für $C_7H_{13}O_3N$ (Mol. 159)
C	52,63%	—	52,83%
H	8,04%	—	8,17%
N	—	8,73%	8,80%

Eigenschaften: Die Substanz krystallisiert in dünnen Prismen, deren Schmelzpunkt zwischen 88° und 93° liegt.

Sie ist in allen organischen Lösungsmitteln schon bei Zimmertemperatur löslich, nur in Petroläther fast unlöslich.

Äthylester des Butyrylalanins.

Zur Darstellung des Esters wurden 5 g Butyrylalanin in 50 ccm absolutem Alkohol gelöst und gasförmige Salzsäure ohne Erwärmen durch mehrere Stunden eingeleitet; sodann wurde mit Soda neutralisiert und der Alkohol am Wasserbad verdampft. Aus dem Rückstand erhielt man bei der Extraktion im Soxhletschen Apparate mit trockenem Äther ein dickliches gelbes Öl, das zur Reinigung der Vakuumdestillation unterworfen wurde, da der Ester bei normalem Druck nicht unzersetzt übergeht. Er destilliert unter 14 mm Druck bei 135 bis 145° als farbloses Öl.

Die Ausbeute betrug 5 g, d. i. 85% der Theorie.

Analysen:

I. 0,2130 g Substanz gaben 0,4509 g CO_2 und 0,1773 g H_2O.
II. 0,3295 g Substanz gaben bei B. 743 mm und T. 20° 22 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.	Berechnet für $C_9H_{17}O_3N$ (Mol. 187)
C	57,73%	—	57,75%
H	9,24%	—	9,09%
N	—	7,42%	7,48%

Der Ester ist in Wasser unlöslich, in Alkohol, Äther usw. leicht löslich.

Butyrylalanylglycin.

Zur Darstellung dieses sowie der beiden nächstfolgenden Substanzen wurde ein Dipeptid, das Alanylglycin, als Ausgangsmaterial verwendet, das nach den Angaben von E. Fischer (Annal. d. Chem. 340, 123) bereitet wurde.

5 g umkrystallisiertes Alanylglycin wurden in 33,5 ccm $^n/_1$-Natronlauge gelöst und zu der durch eine Kältemischung gekühlten Lösung in kleinen Portionen abwechselnd 100 ccm $^n/_1$-Natronlauge und 7 ccm n. Butyrylchlorid (2 Mol.) unter kräftigem Schütteln zugefügt. Nach Beendigung der Reaktion, die ca. $1^1/_2$ Stunden dauert, wird mit 20 ccm ca. 5fach normaler Salzsäure angesäuert und die klare Flüssigkeit im

Vakuum zur Trockene verdampft. Der Rückstand wurde mit Aceton im Soxhletschen Apparate extrahiert, die Acetonlösung abdestilliert, wobei die zuerst aus dem Aceton ausfallenden Krystalle farblos, die späteren aber braun gefärbt erscheinen. Für die Analyse wurde 1 g aus 40 ccm Aceton umkrystallisiert.

Die Ausbeute betrug 6 g, d. i. 81% der Theorie.

I. 0,1945 g Substanz gaben 0,35715 g CO_2 und 0,1272 g H_2O.
II. 0,1105 g Substanz gaben bei B. 738 mm und T. 21° 13,1 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.	Berechnet für $C_9H_{16}O_4N_2$ (Mol. 216)
C	50,08%	—	50,00%
H	7,26%	—	7,40%
N	—	13,03%	12,96%

Butyrylalanylglycin krystallisiert in dünnen Prismen, die bei 166° zu erweichen beginnen und bei 171° bräunlich geschmolzen sind.

Die Substanz ist bei Zimmertemperatur in Methyl- und Äthylalkohol gut, in Wasser, Benzol und Chloroform weniger löslich, beim Erwärmen in Äther wenig, in Aceton gut löslich, in Petroläther fast unlöslich.

Palmitylalanylglycin.

5 g Alanylglycin wurden in 33,4 ccm $^n/_1$-Natronlauge gelöst und zu der Lösung unter Schütteln 100 ccm $^n/_1$-Natronlauge und 14 g Palmitylchlorid zugetropft. Es erwies sich für die Ausbeute als vorteilhafter, auf eine Kältemischung zu verzichten, da das Palmitylchlorid leicht erstarrt und dadurch in seiner Reaktionsfähigkeit herabgesetzt wird. Während der Reaktion bildet sich ein starker Schaum und ein Niederschlag, der von den schlecht löslichen Natronsalzen des Palmitylalanylglycin und der Palmitinsäure herrührt, gegen Ende der Reaktion ist die ganze Flüssigkeit in eine dicke, wenig bewegliche Masse verwandelt. Sodann wird mit 20 ccm ca. 5fach normaler Salzsäure angesäuert und der dichte Niederschlag abgesaugt. Zur Reinigung von der Palmitinsäure wurde wiederholt mit Petroläther extrahiert.

Die Ausbeute betrug 11 g, d. i. 83% der Theorie. Für die Analyse wurde 1 g aus 70 ccm Benzol umkrystallisiert.

I. 0,1734 g Substanz gaben 0,4154 g CO_2 und 0,1603 g H_2O.
II. 0,2050 g Substanz gaben bei B. 748 mm und T. 20° 13,5 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.	Berechnet für $C_{21}H_{40}O_4N_2$ (384)
C	65,34%	—	65,62%
H	10,27%	—	10,41%
N	—	7,37%	7,29%

Eigenschaften: Die Substanz krystallisiert in verwachsenen Nadeln, die trotz mehrmaligem Umkrystallisieren aus Benzol keinen scharfen Schmelzpunkt haben; sie beginnen bei 128° zu erweichen und sind bei 138° zu einer braunen, klaren Flüssigkeit geschmolzen.

Palmitylalanylglycin ist in Wasser völlig unlöslich, organischen Lösungsmitteln gegenüber zeigt es folgendes Verhalten:

	Zimmertemperatur	Siedehitze	Nach dem Abkühlen
Methylalkohol . . .	unlöslich	löslich	fällt aus
Äthylalkohol	„	„	„ „
Benzol	„	„	„ „
Chloroform	„	zieml. löslich	„ „
Eisessig	„	etwas löslich	
Aceton	„	„ „	
Äther	unlöslich	fast unlöslich	
Petroläther	„	unlöslich	

Laurylalanylglycin.

5 g Alanylglycin werden in 33,5 ccm $^n/_1$-Natronlauge gelöst und zu der durch eine Kältemischung gekühlten Lösung abwechselnd unter Schütteln 100 ccm $^n/_1$-Natronlauge und 15 g Laurylchlorid zugetropft.

Die Darstellung des Laurylalanylglycins verläuft im übrigen der des Palmitylalanylglycins analog; nach Beendigung der Reaktion wird mit 20 ccm ca. 5fach normaler Salzsäure angesäuert, mit Petroläther geschüttelt und abgesaugt.

Die Ausbeute betrug 7,5 g, d. i. 66% der Theorie.

Für die Analyse wurde 1 g aus 30 ccm Chloroform umkrystallisiert.

I. 0,1926 g Substanz gaben 0,4410 g CO_2 und 0,1652 g H_2O.
II. 0,2008 g Substanz gaben bei B. 746 mm und T. 19° 15,5 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.	Berechnet für $C_{17}H_{32}N_2O_4$ (Mol. 328)
C	62,44%	—	62,19%
H	9,53%	—	9,75%
N	—	8,66%	8,53%

Eigenschaften: Die Substanz krystallisiert in Aggregaten von Nadeln, die bei 138° zu erweichen beginnen und bei 141° klar geschmolzen sind. Laurylalanylglycin ist in Wasser völlig unlöslich, organischen Lösungsmitteln gegenüber zeigt es folgendes Verhalten:

	Zimmertemperatur	Siedehitze	Nach dem Abkühlen
Methylalkohol . . .	wenig löslich	wenig löslich	—
Äthylalkohol	„ „	„ „	—
Benzol	unlöslich	gut löslich	fällt aus
Chloroform	„ „	„ „	„ „
Eisessig	wenig löslich	mehr löslich	
Aceton	„ „	„ „	
Äther	unlöslich	fast unlöslich	
Petroläther	unlöslich	unlöslich	

Isovalerylglycin.

10 g Glykokoll werden in 134 ccm Natronlauge gelöst und zu der durch eine Kältemischung gekühlten Lösung abwechselnd 17 ccm Isovalerylchlorid und 200 ccm Natronlauge zugetropft und geschüttelt. Nach Beendigung dieser Reaktion wird mit 60 ccm 5mal normaler Salzsäure angesäuert und im Vakuum zur Trockne verdampft. Der zähe, klebrige, krystallinische Rückstand wurde mit Äther extrahiert, da die Extraktion desselben mit Petroläther zur Entfernung der Isovaleriansäure erfolglos blieb. Der Ätherextrakt wurde eingeengt und mit Petroläther versetzt. Nach mehrstündigem Stehen auf dem Eise erstarrt das zuerst ausfallende Öl krystallinisch.

Die Ausbeute betrug 17 g, d. i. 80% der Theorie.

Für die Analyse wurde 1 g in warmem Äther gelöst und mit Petroläther gefällt.

I. 0,1946 g Substanz geben 0,3754 g CO_2 und 0,1412 g H_2O.
II. 0,2031 g Substanz geben bei B. 743 mm und T. 18° 15,6 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.	Berechnet für $C_7H_{13}O_3$ (Mol. 159)
C	52,61%	—	52,83%
H	8,06%	—	8,13%
N	—	8,66%	8,80%

Die Substanz krystallisiert in dünnen Prismen, deren Schmelzpunkt zwischen 87 bis 90° liegt. Isovalerylglycin ist in Wasser, Äthyl- und Methylalkohol bei Zimmertemperatur, in Äther und Aceton bei Siedehitze löslich, in Petroläther unlöslich.

Laurylpepton.

H. Schrotter (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 22, 1950) hat Benzoylierungen der Albumosen des Wittepeptons vorgenommen. Derselbe arbeitete mit verdünnter Lauge. Wir zogen es vor, auch auf den liebenswürdigen Rat E. P. Picks, der mit nahestehenden Problemen beschäftigt ist, in Sodalösung zu arbeiten. (Auch E. Fischer benzoyliert Aminosäuren in Sodalösung.)

10 g „Wittepepton" werden in 300 ccm 20%iger Sodalösung gelöst und die trübe Lösung filtriert, wobei man ca. 4 g unlöslichen Rückstand erhält. Zu der nunmehr klaren gelblichen Flüssigkeit werden unter Kühlung 3,3 g Laurylchlorid zugetropft und kräftig geschüttelt, wobei sich Schaum und Niederschlag bildet. Nach Beendigung der Reaktion, die ca. 1 Stunde dauert — ihr ungefähres Ende wird dadurch angedeutet, daß die Schaumbildung verschwindet —, wurde angesäuert, der Niederschlag abfiltriert und getrocknet. Zur Entfernung der gleichzeitig entstandenen Laurinsäure wurde durch mehrere Stunden mit warmem Äther extrahiert und der unlösliche Rückstand im Vakuum getrocknet.

Man erhält ein deutlich krystallinisches, schwach gelbes Pulver, das ca. 5 g wiegt.

Die Substanz hat keinen Schmelzpunkt, bei 170° beginnt sie sich unter Erweichen zu bräunen. Sie ist in Wasser, verdünnter kalter Lauge und Säure unlöslich, in heißer Lauge löslich und durch Säure wieder fällbar. In Methyl-, Äthylalkohol, Benzol und Chloroform bei Zimmertemperatur wenig

löslich, ist sie bei Siedehitze in Methyl- und Äthylalkohol klar löslich, in Äther, Petroläther und Aceton unlöslich.

Das Produkt gibt deutliche Biuretreaktion, enthält aber im Gegensatze zum Wittepepton keinen Schwefel (Schmelze mit Soda und Salpeter).

Um die Menge der chemisch gebundenen Laurinsäure zu bestimmen, wurde 1,1055 g Laurylpepton mit 40 ccm starker (18%iger) Salzsäure durch mehrere Stunden am Rückflußkühler gekocht und die schwarzbraune Flüssigkeit mit Äther extrahiert. Die Ätherauszüge wurden eingeengt und mit $^n/_{10}$ alkoholischer Lauge titriert.

Es wurden 11,2 ccm Lauge verbraucht, die 0,2242 g Laurinsäure entsprechen; es sind daher 20,28% Laurinsäure gebunden worden. Obzwar es wenig wahrscheinlich ist, daß wir es mit einem einheitlichen Körper zu tun haben, zeigte die Substanz dennoch nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol keine Änderung in ihrer Zusammensetzung.

Es wurden für die Analyse 3 g in 150 ccm Alkohol bei Siedehitze gelöst, heiß abfiltriert und mit Äther bis zur Trübung versetzt. Nach mehrstündigem Stehen wurde die ausgefallene krystallinische Substanz abgesaugt und wog nach dem Trocknen ca. 1 g; die restlichen 2 g konnten durch Eindampfen aus der Mutterlauge gewonnen werden. Die umkrystallisierte Substanz war zum Unterschied vom Rohprodukt fast farblos; in den übrigen Eigenschaften stimmten sie überein.

Analysen des Rohproduktes:

I. 0,1665 g Substanz gaben 0,2615 g CO_2 und 0,0937 g H_2O.
II. 0,2200 g Substanz gaben bei B. 751 mm und T. 19° 20,1 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.
C	42,83%	—
H	6,25%	—
N	—	10,32%

Analysen der umkrystallisierten Substanz:

I. 0,1644 g Substanz gaben 0,2577 g CO_2 und 0,0893 g H_2O.
II. 0,0998 g Substanz gaben bei B. 747 mm und T. 21° 9,5 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.
C	42,75%	—
H	6,03%	—
N	—	10.59%

Palmityl-Pepton.

10 g Wittepepton werden in 300 ccm 20%iger Sodalösung gelöst und die trübe Lösung abfiltriert. Zu der nunmehr klaren Flüssigkeit werden 3,3 ccm Palmitylchlorid zugetropft und kräftig geschüttelt, wobei sich Schaum und Niederschlag bildet. Nach Beendigung der Reaktion wurde angesäuert, der Niederschlag abfiltrirt und getrocknet. Zur Entfernung der Palmitinsäure wurde mehrmals mit Äther extrahiert und der unlösliche Rückstand im Vakuum getrocknet. Man erhält ein braungelbes Pulver, das 6 g wiegt.

Für die Analyse wurde 1 g aus 25 ccm Alkohol umgelöst.

I. 0,1442 g Substanz gaben 0,2484 g CO_2 und 0,093 g H_2O.
II. 0,2530 g Substanz gaben bei B. 743 mm und T. 19° 25,1 ccm N.

In 100 Teilen	I.	II.
C	46,98%	—
H	7,16%	—
N	—	11,06%

Palmitylpepton ist in Wasser, verdünnter, kalter Lauge und Säure unlöslich, in heißer Lauge löslich und durch Säure wieder fällbar. Die Substanz ist bei Zimmertemperatur in Benzol und Chloroform etwas löslich, bei Siedehitze in Methyl- und Äthylalkohol klar löslich, in Äther völlig unlöslich.

Wie das Laurylpepton gibt auch dieses Produkt Biuretreaktion und enthält keinen Schwefel.

Um die Menge der gebundenen Palmitinsäure zu bestimmen, wurde 1,0615 g Palmitylpepton mit Salzsäure am Rückflußkühler gekocht und mit Äther extrahiert. Zur Titration wurden 8,2 ccm $^n/_{10}$-Lauge verbraucht, die 0,21 Palmitinsäure entsprechen. Es sind daher 19,77% Palmitinsäure gebunden worden.

In Hinblick auf die eingangs erwähnte Beziehung zum Fetteiweiß ist es von besonderem Interesse, die Löslichkeitsverhältnisse der dargestellten Körper einer näheren Besprechung zu unterziehen. Während weitaus die meisten Eiweißkörper und ebenso fast alle nicht aromatischen Aminosäuren in starkem Alkohol ganz unlöslich sind, zeigen die dargestellten Verbindungen aus Fettsäuren, Aminosäuren und Dipeptid, ja auch

die Verbindungen mit Wittepepton Löslichkeit in Äthylalkohol.

Weiterhin sind die synthetischen Produkte in Petroläther ganz unlöslich, im Gegensatz zu den zur Synthese genommenen Fettsäuren, die alle in Petroläther sehr leicht löslich sind. Schon die Kuppelung an Glykokoll, der niedersten Aminosäure, hebt die Löslichkeit in Petroläther auf.

In Äthyläther, der wohl das am meisten zur Fettbestimmung in Organen verwandte Extraktionsmittel darstellt, sind die Verbindungen mit Dipeptid und Pepton fast unlöslich. Die Verbindungen der niederen Fettsäuren mit niederen Aminosäuren, Butyrylglycin und Butyrylalanin, gehen nur als trockne Pulver in Äther reichlich über, aus wässerigen Lösungen sind sie nur in Spuren mit Äther extrahierbar.

Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß vielleicht gerade diese eigenartigen, von jenen der bekannten Körper differierenden Löslichkeitsverhältnisse es sind, die es verschulden, daß Lipopeptide bisher nicht isoliert werden konnten. Jedenfalls müssen Forschungen, die die Auffindung von natürlichen Lipopeptiden bezwecken, eingehend die Erfahrungen berücksichtigen, die bisher bei den synthetischen Körpern gemacht wurden.

Über Lipoproteide und die Deutung der degenerativen Zellverfettung.

VI. Weitere Spaltungsversuche mit Lipopeptiden.

Von

S. Bondi und Franz Eißler.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Wiener allgemeinen Poliklinik.)

(*Eingegangen am 20. Dezember 1909.*)

Da wir zu der Annahme einer Aufspaltung von Fetteiweiß durch das Ferment der Autolyse berechtigt sind, war es in erster Linie von Interesse, das Verhalten der dargestellten Körper diesem Ferment gegenüber zu prüfen, doch wurde auch Pepsin und namentlich Trypsin zur Untersuchung herangezogen; da ferner die Fermentreaktionen meistens bei saurer oder alkalischer Reaktion vor sich gehen, wurden aus methodischen Gründen Versuche mit verdünnten Säuren und Alkalien vorgenommen, wobei sich zeigte, daß im allgemeinen längeres Kochen mit $^n/_1$-Lösungen zur Abspaltung des Fettsäurerestes ausreicht, während Kochen mit $^n/_{10}$-Lösungen keine Hydrolyse zur Folge hatte.

Butyryglycin.

Spaltungsversuch mit Pepsin: 0,5 g Butyrylglycin wurden in $^n/_{20}$-Salzsäure gelöst und aktives Pepsin „Grübler" zugesetzt. Nach 5tägigem Stehen im Thermostaten wurde im Vakuum zur Trockene verdampft und mit Äther extrahiert. Das Butyrylglycin wurde quantitativ zurückerhalten.

Spaltungsversuch mit Trypsin: 0,5 g Butyrylglycin wurden in schwach alkalischem Wasser gelöst und aktives Trypsin „Grübler" zugesetzt. Nach 5tägigem Stehen im Thermostaten konnte wie oben gezeigt werden, daß keine Spaltung stattgefunden hatte.

Spaltungsversuch mit autolysierender Niere: 1 g Butyrylglycin wurde in 70 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge gelöst und mit 10 g feingehackter, frischer Schweinsniere und Toluol versetzt. Nach 7tägigem Stehen im Thermostaten wurde kurz aufgekocht, angesäuert und filtriert. Das Filtrat (Geruch nach Buttersäure) wurde im Vakuum zur Trockene verdampft. Der Rückstand ergab, mit Äther extrahiert, 0,1 g unverändertes Butyrylglycin. Um das Glykokoll als Spaltungsprodukt quantitativ nachzuweisen, wurde zur Überführung in den salzsauren Ester mit absolutem Alkohol übergossen und gasförmige Salzsäure bis zur Sättigung eingeleitet. Zum Schluß wurde $^1/_4$ Stunde gekocht und vom Ungelösten abfiltriert. Nach Einimpfen eines Kryställchens Glykokollesterchlorhydrat beginnt beim Stehen auf Eis bald Krystallisation. Die abgesaugten Krystalle wogen nach dem Trocknen 0,5 g. Nach dem Umkrystallisieren aus Alkohol war ihr Schmelzpunkt 144°.

Die autolysierende Niere enthält also ein Ferment, das imstande ist, Butyrylglycin zu spalten.

Butyrylalanin.

Spaltungsversuch mit Leberpreßsaft: 2 g Butyrylalanin wurden in 50 ccm Wasser gelöst, mit 10 ccm Lebersaft und Toluol versetzt und 7 Tage im Thermostaten aufbewahrt. Sodann wurde kurz aufgekocht und filtriert. Das Filtrat wurde im Vakuum eingedampft und mit Äther extrahiert, wobei an unverändertem Butyrylalanin 1,4 g erhalten wurden. Zur Isolierung des abgespaltenen Alanins wurde der in Äther unlösliche Anteil mit absolutem Alkohol übergossen und gasförmige Salzsäure eingeleitet. Zum Schluß wurde $^1/_4$ Stunde gekocht und vom Ungelösten abfiltriert.

Nunmehr wurde zur Darstellung des freien Esters nach den Angaben von E. Fischer[1]) die salzsaure alkoholische Lösung unter vermindertem Druck eingedampft, mit Wasser übergossen, mit Äther überschichtet und unter starker Kühlung Natronlauge zugesetzt, bis alle freie Säure gebunden war.

Zum Schluß wurde noch gekörntes Kaliumcarbonat zugefügt und kräftig geschüttelt. Das Ausschütteln mit Äther

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 433.

wurde dreimal wiederholt und die Ätherauszüge vereinigt. Nach Abdampfen des Äthers verblieb jedoch nur ein so geringer Rückstand, daß er zur weiteren Verarbeitung (Destillation) nicht verwendet werden konnte.

Die spaltende Wirkung des Lebersaftes ist daher nur eine geringe.

Butyrylalanylglycin.

Spaltungsversuch mit Trypsin: 2 g Butyrylalanylglycin wurden in 100 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge gelöst, mit aktivem Trypsin (Kahlbaum) und Toluol versetzt und durch 7 Tage im Thermostaten aufbewahrt. Sodann wurde mit $^n/_{10}$-Salzsäure angesäuert und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde, um unverändertes Butyrylalanylglycin zurückzuerhalten, und eventuell abgespaltenes Butyrylalanin vom Glykokoll zu trennen, mit Aceton extrahiert, wobei das Ausgangsprodukt quantitativ zurückerhalten wurde.

Eine Spaltung hatte somit nicht stattgefunden.

Laurylalanylglycin.

Spaltungsversuch mit Trypsin: Dieser Versuch, dem vorigen analog angeordnet, verlief ebenfalls negativ.

Spaltungsversuch mit autolysierender Niere: 2 g Laurylalanylglycin wurden in 70 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge gelöst, mit 10 g feingehackter, frischer Schweinsniere und Toluol versetzt und 7 Tage im Thermostaten aufbewahrt. Sodann wurde angesäuert, aufgekocht und abfiltriert. Der Filterrückstand wurde je 3mal mit Wasser und Benzol ausgekocht und die vereinigten Filtrate im Vakuum eingedampft. Der Rückstand wurde mit Benzol in der Wärme extrahiert und die nach dem Abdestillieren des Benzols erhaltene Krystallmasse mit Petroläther digeriert. Der im Petroläther unlösliche Anteil wurde abfiltriert, getrocknet und wog ca. 1 g. Derselbe konnte entweder unverändertes Produkt oder ein Gemenge von diesem mit abgespaltenem Laurylalanin darstellen, auf dessen Trennung aber verzichtet wurde. Der im Petroläther lösliche Anteil erwies sich nach dem Abdestillieren und Reinigen durch Überleiten mit Wasserdämpfen als Laurinsäure (F 44°) und wog ca. 0,5 g.

Ferner konnte aus dem in Benzol unlöslichen Rückstand in der früher beschriebenen Weise 0,3 g Glykokoll als Esterchlorhydrat isoliert werden.

Der Versuch ergab daher Abspaltung des Fettsäurerestes und Aufspaltung des Dipeptids.

Die angeführten Spaltungsversuche, die dort, wo wir autolysierende Organe, nicht ihre Extrakte verwendeten, weitgehende Hydrolyse ergaben, ließen es erhoffen, daß mit Hilfe des autolytischen Ferments eine Synthese von Lipopeptiden auszuführen wäre. Denn daß Fermentwirkungen auch reversibler Art sind, haben z. B. die Synthese des Buttersäureäthylesters durch Pankreaslipase[1]) und die Fettsynthese durch Darmlipase[2]) ergeben.

Unsere in dieser Richtung angestellten Versuche führten zu keinem positiven Resultate.

Sie waren so geordnet, daß je 1 g Glykokoll in möglichst wenig Wasser (4 Teile) gelöst und mit etwas mehr als der berechneten Menge Buttersäure, 0,2 g Ferment und Thymol versetzt wurde. Als Ferment kamen Trypsin, Darmlipase aus Schweinsdarm, bereitet nach den Angaben von A. Hamsik[3]) und autolysierende Organe zur Verwendung.

Die Proben wurden nach mehrtägigem Stehen im Thermostaten mit Wasser verdünnt und abfiltriert. Das Filtrat wurde im Vakuum getrocknet und mit Äther extrahiert. Butyrylglycin wurde in keinem Falle erhalten.

---

[1]) J. H. Kastle und A. S. Loewenhart, Amer. Chem. Journ. 24, 491.

[2]) Zuletzt A. Hamsik, Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 1.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 1.

Notiz zur Abhandlung von A. Nürenberg: „Zur Kenntnis des Jodthyreoglobulins."

Von

Wl. Gulewitsch-Moskau.

(Eingegangen am 19. Dezember 1909.)

In der in dieser Zeitschrift, Bd. 16, Seite 87 erschienenen Abhandlung von A. Nürenberg befindet sich eine Stelle (S. 100), welche ich erst vor kurzem bemerkt habe. U. a. beschreibt der Verfasser die Analyse von Alaninkupfer, für welches er anstatt $(C_3H_6NO_2)_2Cu$ mit 26,4% Cu die unrichtige Formel $C_3H_5NO_2Cu$ mit 42,15% Cu angibt. Nun stimmt aber die Kupferbestimmung (42% Cu) ebensogut mit dieser auffallenden Formel wie die übrigen vom Verfasser angeführten Analysen, deren Zusammensetzung durch die richtigen Formeln ausgedrückt ist und die mit der Theorie stimmende Werte ergaben.

Über Kohlenhydratphosphorsäureester. I.

Über Saccharosephosphorsäure.

Von

C. Neuberg und H. Pollak.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landw. Hochschule, Berlin.)

Fügt man zu einer eisgekühlten Lösung von 180 g Rohrzucker in 2 l Wasser, in denen 115 g frisch geglühter Ätzkalk abgelöscht und gut suspendiert sind, tropfenweise und unter dauernder Kühlung ein Gemisch von 77 g Phosphoroxychlorid mit 250 ccm trockenem und alkoholfreiem Chloroform, so vollzieht sich nach der Gleichung:

$$2\,C_{12}H_{22}O_{11} + 2\,POCl_3 + 5\,CaO = 3\,CaCl_2 + H_2O + 2\,C_{12}H_{21}O_{10}.O.PO_3Ca$$

ein Eintritt von Phosphorsäure in das Molekül des Rohrzuckers.

Bedingung für das Gelingen der Reaktion ist, daß Rohrzucker und Ätzkalk in geringem Überschuß vorhanden sind; denn nur so wird erreicht, daß alles nicht zur Veresterung verbrauchte Phosphoroxychlorid durch Überführung in Chlorcalcium und Tricalciumphosphat unschädlich gemacht wird und es allein zur Bildung eines Monophosphorsäureesters kommt.

Das Eintragen des Phosphoroxychlorids muß unter dauerndem Schütteln erfolgen und nimmt ungefähr 3 bis 4 Stunden in Anspruch. Nach dem letzten Zusatz verdünnt man aufs Doppelte mit destilliertem Wasser und läßt einige Stunden stehen. Beim nunmehrigen Filtrieren bleibt der größte Teil des Chloroforms mit den Kalksalzen auf dem Filter. In die erhaltene Lösung leitet man Kohlensäure zur Ausfällung des Calciumhydroxyds, filtriert und dampft im Vakuum ein. Hierbei scheidet sich abermals Calciumcarbonat ab, und zwar früheren Erfahrungen

entsprechend z. T. in kolloidalem Zustande.[1]) Da eine Klärung durch Filtration zunächst nicht völlig gelingt, tropft man die hinreichend konzentrierte Lösung in ungefähr das 5fache Volumen absoluten Alkohol ein. Dieser fällt ein Gemisch vom Calciumsalz der Saccharosephosphorsäure mit Chlorcalcium. Letzteres entfernt man durch mehrfaches Lösen in Wasser und Eintropfen in Alkohol. Im Verlauf dieser Operationen, die bis zum Eintritt gänzlicher Chlorfreiheit 5 bis 6mal wiederholt werden müssen, erhält man völlig klare Flüssigkeiten und gewinnt das Calciumsaccharophosphat rein in einer Ausbeute von rund einem Drittel des Gewichtes vom angewandten Rohrzucker.[2])

Das bei 90° zur Gewichtskonstanz getrocknete Kalksalz hinterläßt beim Glühen Asche, die aus Calciumpyrophosphat besteht.

0,3692 g Substanz : 0,0930 g Asche,
0,3820 g „ : 0,0956 g Asche,
0,2771 g „ : 0,0311 g CaO,
0,3820 g „ : 0,0860 g $Mg_2P_2O_7$,
0,9182 g „ : 0,2096 g $Mg_2P_2O_7$,
0,0639 g „ : 0,0676 CO_2, 0,0303 H_2O.

Die Substanz enthält bei 90° noch 2 Mol. H_2O.

Berechnet für $C_{12}H_{21}O_{14}PCa + 2H_2O$:

$Ca_2P_2O_7 = 25{,}60$; gef. 25,23 und 25,03%
Ca = 8,07; „ 8,02%
P = 6,25; „ 6,27 und 6,36%
C = 29,03; „ 28,85%
H = 5,04; „ 5,29%.

Das Kalksalz der Saccharosephosphorsäure bildet ein weißes, durchaus luftbeständiges feines Pulver, das in Wasser spielend leicht löslich ist.

Die Lösung gibt keinen Niederschlag mit Silber-, Kupfer- und anderen Schwermetallsalzen. Auch Bleizucker und Bleiessig fällen nicht, wohl aber Bleiessig und Ammoniak, die einen massigen Niederschlag erzeugen.

Saccharosephosphorsäure gibt mit Magnesiamixtur auch beim Kochen keine Spur einer Fällung, ebensowenig mit Ammoniummolybdat; erst nach vorherigem Erhitzen in mineralsaurer Lösung fallen beide Proben positiv aus.

[1]) C. Neuberg und B. Rewald, diese Zeitschr. 9, 549, 1908.
[2]) Eine Verarbeitung der Mutterlaugen ist angesichts des billigen Ausgangsmaterials hier nicht versucht.

Nimmt man die Hydrolyse des Phosphorsäureesters mit Salz- oder Schwefelsäure vor, so tritt infolge Bildung von Huminstoffen aus der Fruchtzuckerkomponente Dunkelfärbung auf; letztere kann man vermeiden, wenn man einige Tropfen Salpetersäure zusetzt.

Beim Kochen mit Mineralsäuren stellt sich auch Reduktionsvermögen ein, während die ungespaltene Verbindung gegen Fehlingsche Lösung absolut beständig ist.

Als Derivat des Rohrzuckers zeigt die neue Verbindung die Farbenreaktionen der Saccharose (Proben von Molisch-Udrańzski und Seliwanoff).

Interessanterweise hebt der Eintritt von Phosphorsäure in das Molekül des Rohrzuckers die Gärfähigkeit völlig auf. Daß nicht etwa der Calciumgehalt des saccharosephosphorsauren Kalkes die Einwirkung der Hefe verhindert, ergibt sich ohne weiteres aus der Tatsache, daß nach Zusatz von ein wenig Rohrzucker dieser glatt vergärt. Wird der Phosphorsäureester vorher mit Salzsäure gespalten und die Lösung mit Soda neutralisiert, so tritt nunmehr Gärung ein.

Die Untersuchung der Saccharosephosphorsäure wird fortgesetzt.

Durch sinngemäße Abänderung der Methode, z. B. Verwendung von Calciumcarbonat u. a. m. an Stelle von Ätzkalk, läßt sich Phosphorsäure in das Molekül auch von reduzierenden Zuckern einführen, ferner in Aminosäuren. Durch Einwirkung von Kaliumpyrophosphat auf alkalische Rohrzuckerlösung ließ sich die Bildung von Kohlenhydratphosphorsäureestern nicht erreichen; dagegen liefert die Reaktion bei Verwendung von Kaliumpyrosulfat Schwefelsäureester, die sich auch durch Sulfurylchlorid bzw. Chlorsulfonsäure (analog der erwähnten Benutzung von Phosphoroxychlorid) herstellen lassen. Das Studium dieser Verbindungen, die wegen mannigfacher Beziehungen zu Substanzen und Vorgängen des tierischen und pflanzlichen Organismus (zu den Nucleinsäuren und Phosphorproteinen, zu den Problemen der Gärung und andererseits zu der Chondroitinschwefelsäuregruppe) ein großes Interesse haben, möchten wir uns vorbehalten.

Autorenverzeichnis.

Bang, Ivar. Kobragift und Hämolyse III. S. 463.

Berichtigungen. S. 428.

Biltz, Wilhelm. Über die Adsorption von Eiweißstoffen. S. 27.

Bondi, S. und Franz Eißler. Über Lipoproteide und die Deutung der degenerativen Zellverfettung. V. S. 499.

— — — — Desgl. VI. S. 510.

Buglia, G. Über das Schicksal der intravenös in den Organismus eingeführten Gelatine und über die dadurch bedingten Veränderungen des Blutes und des Harns. S. 215.

Croner, W. Versuche über Resorption von Fetten im Dünndarm. S. 97.

Cronheim, W. Über den Nachweis von Fluorwasserstoff neben Fluorsalzen. S. 143.

Eißler, Franz, siehe Bondi und Eißler.

Epstein, Albert A. Zur Lehre von der Harnstoffbildung. S. 250.

Erlandsen, A. Experimentelle Untersuchungen über den Phlorizindiabetes. I. S. 329.

Forßmann, J. Über das Bindungsvermögen der Stromata. S. 146.

Glaser, Erhard. Thermometer als Thermoregulatoren. S. 5.

Gudzent. Kritische Bemerkungen zu der Arbeit „Vorstudien über Gicht“ von Bechold und Ziegler (diese Zeitschr. 20, 189). S. 275.

Gulewitsch, Wl. Notiz zur Abhandlung von A. Nürenberg: Zur Kenntnis des Jodthyreoglobulins. S. 514.

Hata, S. Über die Bestimmung des Pepsins durch Aufhellung von trüben Eiereiweißlösungen. S. 179.

Höckendorf, Paul. Über den Einfluß einiger Alkohole, Oxy- und Aminosäuren der aliphatischen Reihe auf die Zucker- und Stickstoffausscheidung beim Phlorizindiabetes des Hundes. I. S. 281.

Kawashima, K. Über das Verhalten der Antikörper des Blutserums gegen Lösungsmittel und andere Reagenzien. S. 186.

Kostytschew, S. Über den Einfluß vergorener Zuckerlösungen auf die Atmung der Weizenkeime. S. 137.

Kowalevsky, K. Über das Schicksal des Histidins im Körper des Hundes. S. 1.

Loeb, Jacques. Chemische Konstitution und physiologische Wirksamkeit von Alkoholen und Säuren. II. S. 93.

Löb, Walther. Zur Kenntnis der Zuckerspaltungen. VII. S. 10.

Löwy, Emil. Über krystallinisches Chitosansulfat. S. 47.

Mandel, J. A. Über die Spaltungsprodukte des Nucleoproteides der Milchdrüse. S. 245.

Meyer, Kurt. Über Trypsin und Antitrypsin. S. 68.

Michaelis, L. und P. Rona. Der Einfluß der Neutralsalze auf die Indicatoren. S. 61.

— — — — Beiträge zur Frage d. Glykolyse. I. Die Alkaliempfindlichkeit des Traubenzuckers. S. 364.

Nerking, J. Zur Methodik der Lecithinbestimmung. S. 262.

Neuberg, C. und H. Pollak, Über Kohlenhydratphosphorsäurester. I. S. 515.

Nußbaumer, Ths., siehe Burri und Nußbaumer.

Pollak, H., siehe Neuberg u. Pollak.

Porcher, Ch. Über die Entstehung des Milchzuckers. S. 370.

Reinhard, A., siehe Zaleski und Reinhard.

Rohland, P. Über die Adsorption durch Tone. II. S. 278.

Rona, P., siehe Michaelis und Rona.

Salkowski, E. Über das Vorkommen von Cholesterinestern in der menschlichen Epidermis und die Reaktionen derselben. S. 361.

Sasaki, Takaoki. Über eine neue empfindliche Skatolreaktion. S. 402.

Sato, T. Neue Reaktionen des Schwefelharnstoffes. S. 45.

Sieber, N. Zur Frage der Einwirkung von Alkohol auf den Gehalt der tierischen Organe an Phosphatiden. S. 304.

Terroine, Emil F. Zur Kenntnis der Fettspaltung durch Pankreassaft. I. S. 404.

Terroine, Emil F. Zur Kenntnis der Fettspaltung durch Pankreassaft. II. S. 429.

Thar, H. Die Purinbasen des Knochenmarks. S. 43.

Truffi, Mario. Über die Wirkung von Quecksilbersalzen auf die Autolyse. S. 270.

Ury, Hans. Über den quantitativen Nachweis von Fermenten in den Faeces. S. 153.

Vandevelde, A. J. J. Über polarimetrisch meßbare Zuckerstörungen in physiologischen Flüssigkeiten. S. 324.

Yoshida, Tanzo. Über die Formoltitration der Aminosäuren im Harne. S. 239.

Zaleski, W. Über die Rolle des Sauerstoffs bei der Eiweißbildung in den Pflanzen. S. 150.

— — und A. Reinhard. Die Wirkung der Mineralsalze auf die Atmung keimender Samen. S. 193.

PERIODICAL

RETURN TO the circulation desk of any
University of California Library
or to the
NORTHERN REGIONAL LIBRARY FACILITY
Bldg. 400, Richmond Field Station
University of California
Richmond, CA 94804-4698

ALL BOOKS MAY BE RECALLED AFTER 7 DAYS
2-month loans may be renewed by calling
(415) 642-6233
1-year loans may be recharged by bringing books
to NRLF
Renewals and recharges may be made 4 days
prior to due date

DUE AS STAMPED BELOW

OCT 23 1988

NOV 6 1987 REC'D

61874
Biochemische zeitschrift.
QP501
B54
v.23
NOV 3 0 '57

Biochemische zeitschrift
QP501
B54
v.23

PERIODICAL
61874

PAGE NOT AVAILABLE

PAGE NOT AVAILABLE

PAGE NOT AVAILABLE

PAGE NOT AVAILABLE

PAGE NOT AVAILABLE